

SERMIN DICLE AKSAKAL

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2018

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak  
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya  
(sol yandaki gibi) olacak .



← Tez, Yüksek Lisans'sa, **YÜKSEK LİSANS TEZİ**;  
Doktora ise **DOKTORA TEZİ** ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**(DOKTORA TEZİ)**

**KALP HASTASI ÇOCUKLARDA MOBİL VE ORAL  
MİKROBİYOM İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**SERMİN DİCLE AKSAKAL**

**DANIŞMAN  
PROF. DR. OYA AKTÖREN**

**PEDODONTİ ANABİLİM DALI  
PEDODONTİ PROGRAMI**

**İSTANBUL-2018**

**TEZ ONAYI****DOKTORA TEZİ ONAYI**

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dişhekimliği Fakültesi, Pedodonti Anabilim Dalı, Pedodonti Doktora Programında Doktora Öğrencisi Sermin Dicle AKSAKAL tarafından Prof.Dr. Oya AKTÖREN'in danışmanlığında hazırlanan "Kalp Hastası Çocuklarda Mobil ve Oral Mikrobiyom ilişkisinin Değerlendirilmesi" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 15/03/2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı**

Prof.Dr. Elif SEPET  
İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi  
Pedodonti Anabilim Dalı

**Jüri-Danışman**

Prof.Dr. Oya AKTÖREN  
İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi  
Pedodonti Anabilim Dalı

**Jüri**

Prof.Dr. Güven KÜLEKÇİ  
İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi  
Temel Tıp Bilimleri Anabilim Dalı  
Mikrobiyoloji Bilim Dalı

**Jüri**

Prof.Dr. Serap AKYÜZ  
Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi  
Pedodonti Anabilim Dalı

**Jüri**

Prof.Dr. Işın ULUKAPI  
Okan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi  
Pedodonti Anabilim Dalı



**BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Sermin Dicle Aksakal



## İTHAF

*Aileme ithaf ediyorum.*

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile bana her konuda yol gösteren, sevgisini, anlayışını ve desteğini her zaman hissettiğim değerli danışman hocam Sayın **Prof. Dr. Oya Aktören**'e,

Tez çalışmamın oluşturulmasında ve olgunlaştırılmasında emeği geçen, büyük sabır ve titizlikle bana her zaman destek olan hocam Sayın **Prof. Dr. Güven Külekçi**'ye,

Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Pedodonti Anabilim Dalı'ndaki değerli hocalarım, başta Anabilim Dalı Başkanı Sayın **Prof. Dr. Gamze Aren** ve Tez İzleme Komitesi hocam Sayın **Prof. Dr. Elif Sepet** olmak üzere, **Prof. Dr. Teyfik Akıncı, Prof. Dr. Zeynep Aytepe, Prof. Dr. Koray Gençay, Prof. Dr. Figen Seymen, Doç. Dr. Elif Bahar Tuna İnce, Doç. Dr. Arzu Pınar Erdem ve Dr. Mine Koruyucu**'ya,

Doktora tezimin mikrobiyoloji laboratuvar çalışmalarını gerçekleştirmemde bana yardımcı olan, bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, değerli fikirleri ile bana yol gösteren hocam Sayın **Doç. Dr. Nursen Topçuoğlu**'na,

Doktora eğitimim boyunca her konuda bana destek olan, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım kıdemli asistanım **Dr. Yeliz Güven**'e ve fakültede geçirdiğim yıllar boyunca benden yardımlarını esirgemeyen, daha mutlu ve huzurlu bir çalışma ortamında bulunmamı sağlayan çalışma arkadaşım **Dr. Yelda Kasımoğlu**'na,

Tez çalışmam boyunca benden desteklerini esirgemeyen, bu süreçte bana eşlik eden ve yıllar boyunca her anımı paylaştığım her kıdemdeki tüm Pedodonti Anabilim Dalı'ndaki sevgili asistan arkadaşlarıma,

Tez çalışmamda örneklerin toplanması sırasındaki yardımlarından ve sabırlarından dolayı değerli hemşirelerimiz **Necla Keskin** ve **Yeliz Karataş Özer**'e, yıllardır her konuda destek olan sevgili sekreterimiz **Hülya Arslan**'a,

Tezimin mikrobiyoloji çalışmalarının gerçekleştirilmesinde yardımcı olan Ağız Mikrobiyolojisi Bilim Dalı çalışanları **Emine Mutlu** ve **Arzu Ceylan**'a,

Tezimin genetik analiz çalışmalarını gerçekleştiren ve bu konudaki sorularımı sabırla cevaplayan Artı Biyoteknoloji Laboratuvarı'ndan **İlker Karacan**'a,

Beraber yola çıktığım, eğitim hayatımın her anında yanımda olan, ilk günden beri tüm zorlukları beraber aştığım, ömür boyu gülümseyerek hatırlayacağım güzel anılar biriktirdiğim canım arkadaşlarım **Dr. Ceren Güney Güleç, Dr. Sinem Kuru Kaygun** ve **Dt. Pelin Keskin'e**,

Hayatım boyunca sevgi, anlayış ve sabırla her zaman yanımda olan, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, canım ailem **Mersiye, Turgut** ve **Meriç Uluğ'a**,

Ve hayatımın her anında sevgisini hissettiğim, tez çalışmam boyunca sabırla beni destekleyen canım eşim **Can Aksakal'a** sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı tarafından desteklenmiştir. Proje no:280.2016-DR-33/27-08.

## İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI .....	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER .....	Vİİ
TABLolar LİSTESİ.....	X
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ .....	Xİİİ
ÖZET .....	XV
ABSTRACT.....	XVİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. İnsan Mikrobiyomu Ve Oral Mikrobiyom.....	3
2.1.1. İnsan Mikrobiyom Projesi.....	3
2.1.2. Oral Mikrobiyomu Oluşturan Bakteri Türleri.....	4
2.2. Oral Mikrobiyomdaki Değişikliklerin Sebep Olduğu Lokal Etkiler .....	17
2.2.1. Diş Çürüğü .....	17
2.2.2. Periodontal Hastalıklar.....	18
2.2.3. Endodontik İnfeksiyonlar.....	19
2.3. Oral Bakterilerin Sebep Olduğu Sistemik Etkiler.....	20
2.3.1. Mobil Mikrobiyom.....	21
2.3.2. Bakterilerin Kan Dolaşımına Geçişi .....	24
2.3.3. Odontojenik Bakteremideki Bakteri Çeşitliliği.....	23
2.3.4. Odontojenik Bakteremiye Tetikleyen Etkenler .....	25
2.3.5. Geçici Odontojenik Bakteremi.....	30
2.3.6. Oral Patojenlerin Sebep Olduğu Sistemik veya Uzak Doku İnfeksiyonları .....	30
2.4. Konjenital Kalp Hastalıkları .....	34
2.4.1. Konjenital Kalp Hastalıkları ve Görülme Sıklıkları .....	34
2.4.2. Konjenital Kalp Hastası Çocuklarda Ağız Diş Sağlığı .....	36



2.4.3. İnfektif Endokardit ve Antibiyotik Profilaksisi .....	36
2.5. Mikroorganizmaların Tanımlanması .....	38
2.5.1. Kültüre Dayalı Tanı Yöntemleri .....	38
2.5.2. Direkt Mikroskopi Yöntemi.....	39
2.5.3. İmmünolojik Testler.....	39
2.5.4. Moleküler Teknikler .....	39
2.5.5. Metagenomik Yaklaşım .....	41
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	42
3.1. GEREÇ .....	42
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Sarf Malzemeler .....	42
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar .....	43
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Kitler.....	43
3.1.4. Çalışmada Kullanılan Suşlar.....	44
3.2. YÖNTEM .....	44
3.2.1. İndeks Ölçümleri.....	44
3.2.2. Tükürük ve Kan Örneklerinin Elde Edilmesi .....	46
3.2.3. Kan ve Tükürük Örneklerinin Mobil ve Oral Mikrobiyom Açısından İncelenmesi .....	47
3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme .....	51
4. BULGULAR.....	52
4.1. Kalp Hastası ve Kontrol Grubundaki Çocukların Yaş ve Cinsiyet Açısından Değerlendirilmesi.....	52
4.2. Kalp Hastası ve Kontrol Grubundaki Çocukların İndeks Değerleri Açısından Değerlendirilmesi.....	53
4.3. Kalp Hastası ve Kontrol Grubu Çocuklarda Kan Örneklerinin Mobil Mikrobiyom Açısından Değerlendirilmesi .....	57
4.4. Kalp Hastası ve Kontrol Grubu Çocuklarda Oral Mikrobiyomun Hedef Bakteriler Açısından Değerlendirilmesi .....	59
4.5. Kalp Hastası ve Kontrol Grubu Çocukların Tükürük Örneklerinde Saptanan Hedef Bakterilerin İndeks Değerleri ile İlişkisinin Değerlendirilmesi.....	65
5. TARTIŞMA .....	69
5.1. Gereç ve Yöntemin Değerlendirilmesi .....	69
5.1.1. Çalışma Tasarımı .....	69

5.1.2. İndeks Ölçümleri.....	70
5.1.3. Tükürük Örneklerinin Elde Edilmesi.....	71
5.1.4. Kan Örneklerinin Elde Edilmesi.....	72
5.1.5. Tükürük ve Kan Örneklerinin Oral ve Mobil Mikrobiyom Açısından İncelenmesi .....	74
5.2. Bulguların Değerlendirilmesi.....	78
5.2.1. Çürük İndeksinin Değerlendirilmesi.....	78
5.2.2. Kalp Hastası ve Kontrol Grubu Çocuklarda Plak İndeksi ve Modifiye Dişeti İndeksi Bulgularının Değerlendirilmesi.....	80
5.2.3. Kalp Hastası ve Kontrol Grubu Çocuklarda Mobil Mikrobiyomun Değerlendirilmesi.....	81
5.2.4. Kalp Hastası ve Kontrol Grubu Çocuklarda Oral Mikrobiyomun Değerlendirilmesi.....	84
KAYNAKLAR .....	101
HAM VERİLER .....	139
FORMLAR .....	142
PATENT HAKKI İZİNİ .....	149
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	150
ÖZGEÇMİŞ .....	151

## TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Oral mikrobiyomda bulunan bakteri aileleri ve cinsleri .....	5
Tablo 2-2: Oral bakterilerin ağız dışı infeksiyonlardaki olası etki mekanizmaları .....	21
Tablo 2-3: Odontojenik bakteremilerde izole edilen bakteri türleri ve kan dolaşımına geçişlerini ve hayatta kalmalarını kolaylaştıran virülans faktörler .....	25
Tablo 2-4: Konjenital kalp hastalıklarının gruplandırılması.....	35
Tablo 2-5: Dental prosedürlerde profilaksi gerektiren kardiyak durumlar.....	37
Tablo 3-1: Plak indeks derecelendirmesi.....	45
Tablo 3-2: Modifiye Dişeti İndeksi Değerleri .....	46
Tablo 3-3: Kan örnekleri için qPCR reaksiyon içeriği .....	50
Tablo 3-4: Tükürük örnekleri için qPCR reaksiyon içeriği .....	50
Tablo 3-5: qPCR çalışma programı .....	50
Tablo 3-6: Kalp hastası ve kontrol grubundaki çocukların tükürük ve kan örneklerinin qPCR incelemesinde kullanılan primerler .....	51
Tablo 4-1: Çocukların yaş ve cinsiyet özelliklerinin değerlendirilmesi .....	52
Tablo 4-2: Çalışmaya katılan tüm çocukların çürük indeksi, plak indeksi ve modifiye dişeti indeksi açısından değerlendirilmesi .....	53
Tablo 4-3: Kalp hastası ve kontrol grubundaki çocukların çürük indeksi, plak indeksi ve modifiye dişeti indeksi ölçümlerinin değerlendirilmesi .....	55
Tablo 4-4: Her plazma örneğinden izole edilen DNA örneklerinin 5µl'sinde bulunduğu hesaplanan β-globin kopya sayıları.....	57
Tablo 4-5: Her plazma örneğinden izole edilen DNA örneklerinin 5µl'sinde bulunduğu hesaplanan bakteri DNA'sı kopya sayıları. ....	59
Tablo 4-6: Çalışmaya katılan tüm çocukların tükürük örneklerinden izole edilen hedef bakteri ve toplam bakteri sayılarına ilişkin dağılım.....	60
Tablo 4-7: Gruplara göre tükürük örneklerinden izole edilen hedef bakteri ve toplam bakteri sayısına ilişkin dağılım .....	62
Tablo 4-8: Elde edilen mikroorganizma sayılarının ve toplam bakteri sayılarına oranlarının gruplar arası karşılaştırma sonucu hesaplanan p-değerleri .....	63
Tablo 4-9: Tükürük örneklerinde hedef bakterilerin varlığına göre indeks ölçümlerinin değerlendirilmesi .....	66

Tablo 4-10: Tükürük örneklerinde hedef bakterilerin ve toplam bakteri sayısına göre indeks ölçümlerinin değerlendirilmesi.....	68
--	----



## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: HACEK grubu bakterilerin 16SrRNA dizileme analizine dayalı filogenetik analizi.....	9
Şekil 2-2: Lyngbyatoxin gen kümesi ve ltxA, B, C, D biyosentezi .....	10
Şekil 4-1: Kalp hastası ve kontrol grubu çocuklarda saptanan DMFT değerlerinin dağılımı .....	56
Şekil 4-2: Kalp hastası ve kontrol grubu çocuklarda saptanan DMFS değerlerinin dağılımı .....	56
Şekil 4-3: Kalp hastası ve kontrol grubu çocuklarda saptanan modifiye dişeti indeksi değerlerinin dağılımı.....	56
Şekil 4-4: Gruplara göre $\beta$ -globin plazma konsantasyonu değerleri .....	58
Şekil 4-5: Çalışmaya katılan çocukların tükürük örneklerinde hedef bakterilerin dağılımları.....	61
Şekil 4-6: Kalp hastası ve kontrol grubundaki çocukların tükürüklerinden izole edilen toplam bakteri sayısının karşılaştırılmasını gösteren PCA grafiği .....	63
Şekil 4-7: Gruplara göre hedef bakterilerin ve toplam bakteri sayısının Box-plot grafiği .....	64
Şekil 4-8: Hedef bakterilerin 200 $\mu$ l uyarılmamış tükürük örneğinde ölçülen sayılarına ilişkin Heatmap grafiği .....	65

**SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ**

- HMP: Human Microbiome Project (İnsan Mikrobiyom Projesi)
- NIH: National Institute of Health (Ulusal Sağlık Enstitüsü)
- HOM: Human Oral Microbiome (İnsan Ağız Mikrobiyomu)
- HOMD: Human Oral Microbiome Database (İnsan Ağız Mikrobiyom Veritabanı)
- GTF: Glukoziltransferaz
- FTF: Fruktoziltransferaz
- RGPs: Ramnoz Glikoz Polisakkaritleri
- CDT: Sitoletal Distending Toksin
- RTX: Repeats-in Toxin
- LtxA: Lökotoksin A
- ltx: Lyngbyatoxin
- PMN: Polimorfontükleer lökosit
- FadA: *Fusobacterium nucleatum* Adhesin A
- LAP: Lokalize agresif periodontitis
- Ig: İmmünglobin
- PRP: Prolince Zengin Protein
- IL: İnterlökin
- MMP: Matriks Metalloproteinaz
- ICAM: Intercellular Adhesion Molecule 1
- LFA: Lymphocyte Function Associated Antigen
- EmaA: Extracellular Matrix Protein Adhesin A
- PAAP: Platelet Aggregation Associated Protein
- NBTE: Non-bakteriyel Trombotik Endokardit
- CHD: Congenital Heart Disease (Doğumsal Kalp Hastalığı)

VSD: Ventriküler Septal Defekt

ASD: Atriyal Septal Defekt

BAT: Büyük Arter Transpozisyonu

TA: Triküspit Atrezisi

PDA: Patent Duktus Arteriozus

ACC/AHA: American Cardiology College/American Heart Association

DNA: Deoksiribonükleik asit

RNA: Ribonükleik asit

SEM: Taramalı Elektron Mikroskobu

ELİSA: Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay

PCR: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

qPCR: Kantitatif PCR

ATCC: American Type Culture Collection

DSMZ: Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen

WHO: World Health Organisation (Dünya Sağlık Örgütü)

OHI-S: Simplified Oral Hygiene Index (Basitleştirilmiş Ağız Hijyen İndeksi)

EDTA: Etilen dioksit tetraasetik asit

AU: Amplikon uzunluğu

NCSS: Number Cruncher Statistical System

PCA: Principle Components Analysis (Temel Bileşenler Analizi)

Sm: *Streptococcus mutans*

Smk: *Streptococcus mutans* serotip k

Aa: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Fn: *Fusobacterium nucleatum*

Pg: *Porphyromonas gingivalis*

Sw: *Scardovia wiggisiae*

## ÖZET

Aksakal, S.D. (2018). Kalp Hastası Çocuklarda Mobil ve Oral Mikrobiyom İlişkisinin Değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Pedodonti ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Bu çalışmanın amacı, konjenital kalp hastası çocuklarda mobil ve oral mikrobiyomun araştırılmasıdır. Çalışma kapsamında 20 kalp hastası (ortalama yaş;  $9,90 \pm 1,66$ ) ve 20 sağlıklı kontrol grubu çocuklarda çürük, plak ve diş eti indeksi değerleri ölçüldü; tükürük ve venöz kan örnekleri elde edildi. Kan örneklerinde, mobil mikrobiyomun değerlendirilmesi amacıyla bakteriyel DNA varlığı; tükürük örneklerinde, oral mikrobiyomda *Streptococcus mutans* (Sm) ve *S.mutans* serotip *k* (Smk), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) ve JP2 klonu (AaJP2), *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Fusobacterium nucleatum* (Fn ), *Scardovia wiggsiae* (Sw) varlığı ve miktarları qPCR analizleri ile gerçekleştirildi. Elde edilen bulgular, Spearman Korelasyonu, Mann WhitneyU, ki-kare ve Fisher's Exact testleri ile analiz edildi. Analizler sonucunda iki kan örneğinde bakteriyel DNA varlığı saptandı. Kalp hastası ve kontrol gruplarının tükürük örneklerinde saptanan bakteri oranları sırasıyla Sm %95-%100, Smk %10-%20, Aa %20-%35, JP2 %15-5, Pg %30-%25, Fn %100-%100 ve Sw %95-%95 olarak belirlendi. Gruplar arasında bakteri varlığı ve sayısı açısından anlamlı farklılıklar bulunmadığı, kalp hastası grubunda anlamlı derecede düşük çürük ve yüksek plak indeksi değerleri olduğu saptandı. Aa ve Pg varlığının yüksek dişeti indeksi değerleri ile ilişkili olduğu belirlendi. Sm ve Smk sayıları ile çürük indeksleri arasında pozitif korelasyonlar bulunduğu, Fn ve toplam bakteri sayılarının plak indeksi ile anlamlı derecede ilişkili olduğu saptandı. Bu çalışmada elde edilen veriler mobil mikrobiyomun çocuklarda çok seyrek olduğunu; kalp hastası ve sağlıklı çocuklarda oral mikrobiyomda bakteri varlığı ve sayısı açısından anlamlı farklılıklar olmadığını göstermiştir. Bakteriemi riski çoğunlukla periodontal sağlık sorunu ile ilişkilendirildiğinden, periodontopatojen Aa, AaJP2 ve Pg'nin erken kolonizasyonuna sahip çocukların uzun süreli takibi önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Mobil mikrobiyom, oral mikrobiyom, doğumsal kalp hastalığı, qPCR

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı tarafından desteklenmiştir. Proje No: 280.2016-DR-33/27-08.



## ABSTRACT

Aksakal, S.D. (2018). Assessment of the mobile and oral microbiome association in children with congenital heart disease. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Paediatric Dentistry. PhD Thesis. Istanbul.

The aim of this study was to analyze the mobile and oral microbiome in children with congenital heart disease (CHD). Twenty children with CHD (mean age;9,90±1,66) and healthy control group were evaluated for caries, plaque and gingival indexes; saliva and venous blood samples were collected. Blood samples were evaluated for presence of bacterial DNA to assess mobile microbiome; saliva samples were evaluated for the presence and quantification of *S.mutans*(*Sm*) and its serotype *k*(*Smk*), *A.actinomycetemcomitans*(*Aa*) and its JP2 clone(*AaJP2*), *P.gingivalis*(*Pg*), *F.nucleatum*(*Fn*), *S.wiggisiae*(*Sw*) by qPCR method. The findings were analyzed by Spearman's Correlation, Mann WhitneyU, chi-square and Fisher's exact tests. Bacterial DNA was determined in 2 blood samples. The %'s of bacteria detected in saliva samples of CHD and control groups, respectively,were: *Sm*(95%-100%), *Smk*(10%-20%), *Aa* (20%-35%) ,*JP2*(15%-5%) ,*Pg*(30%-25%), *Fn*(100%-100%), *Sw*(95%-95%). No significant differences were found in presence and counts of bacteria between the groups. Significantly lower caries and higher plaque index scores were determined in CHD group. The presence of *Aa* and *Pg* have shown significancy with higher gingival index scores. Positive correlations were found between caries experience and *Sm* and *Smk* levels; higher plaque scores were significantly associated with *Fn* and total bacteria counts.The data of this study has revealed that mobile microbiom was very rare in children; and analyzed bacteria in oral microbiome of the groups have shown no significancy for presence and quantity. Since bacteraemia risk is mostly associated with periodontal health disorder, long term follow-up of children with early colonization of periopathogens *Aa*, *AaJP2*, *Pg* has great importance.

**Key Words:** Mobile microbiome, oral microbiome, congenital heart disease, qPCR

The present work was supported by the Teaching Staff Training Programme of Istanbul University. Project No: 280.2016-DR-33/27-08.

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kalp hastalığı bulunan çocuklarda ağız ve diş sağlığı hayatsal önem taşımaktadır. Çalışmalarda her 1000 canlı doğumda 5-8 çocukta doğumsal kalp hastalığı bulunduğu bildirilmektedir (Marelli ve ark. 2014; Egbe ve ark. 2015). Doğumsal ve kazanılmış kalp rahatsızlıkları olan çocuklarda yapılan profesyonel ağız içi işlemlerin, diş fırçalama, diş ipi kullanma ya da çiğneme gibi rutin günlük aktivitelerin ya da kötü ağız hijyeninin normal fizyolojik durumlarda bile bakteremi ve infektif endokardit oluşturma riski olduğu vurgulanmaktadır (Bonow ve ark. 2008; Habib ve ark. 2009).

Doğal birçok ortamda, mikroorganizmaların %1'inden azını kültür edilebilir cinsler oluşturmaktadır. Oral bakterilerin kültür edilmesine ilişkin yapılmış çalışmalarda bakterilerin yaklaşık %50'sinin kültür edilebildiği bildirilmiştir (Paster ve ark. 2001). Kültürden bağımsız moleküler teknikler, geçmişte kültür edilemeyen mikroorganizmaların araştırılmasını mümkün kılmakta, 16S rRNA gen sekanslarına dayanan kesin bakteri tanımlaması ile hedefe yönelik daha etkili hasta yönetimleri mümkün olabilmektedir (Becker ve ark. 2002; Ling ve ark. 2010).

Ağız boşluğu, insan vücudunda en fazla bakteri çeşitliliği barındıran mikrobiyomlardan birine sahiptir. İnsan ağız boşluğunda bulunan mikroorganizmaların tümü oral mikrobiyota olarak adlandırılır. Mikrobiyom terimi “vücudumuzu paylaştığımız, ancak sağlık ve hastalık belirleyicileri olarak şimdiye kadar görmezden gelinen kommensal, simbiyotik ve patojen mikroorganizmalar topluluğu”nu tanımlamak için kullanılmaya başlanmıştır (Lederberg ve McCray 2001) ve “oral mikrobiyom” ağız boşluğundaki mikroplar, yani mikrobiyota ile mikrobiyotanın genetik elementlerinin (genomlarının) ve çevresel etkileşimlerin tümünü belirtir (Külekçi 2013).

Günümüzde ağız ve bağırsak mikrobiyotasında bulunanlar başta olmak üzere bakterilerin veya toksinlerinin buldukları bölgelerden kan dolaşımına geçiş yaparak uzak vücut bölgelerinde etkili olmaları “mobil mikrobiyom” olarak tanımlanmakta ve mobil mikrobiyom konusu son yıllarda pek çok çalışmada moleküler teknikler kullanılarak araştırılmaktadır. Kalp hastalıkları, inflamatuvar hastalıkları, gebelik komplikasyonları, kanser, diyabet ve Alzheimer başta olmak üzere pek çok hastalıkta oral bakterilerin rolü üzerinde durulmaktadır (Li ve ark. 2000; Han ve Wang 2013; Païssé ve ark. 2016; Teles 2017).

Çocuklarda oral mikrobiyom erişkinlerden farklı ve henüz inceleme aşamasındadır. Oral bakterilerin ağız dışı infeksiyonlar ve enflamasyonlardaki rolünün pek çok araştırmacı tarafından incelendiği, ancak çocuklarda bu konuda gerçekleştirilmiş çalışmaların kısıtlı olduğu görülmektedir. Kalp hastalığı bulunan çocuklarda enfektif endokardit oluşturma riski açısından büyük önem taşıdığı bilinen oral bakteri çeşitliliğinin ve mobil mikrobiyomdaki rollerinin ayrıntılı olarak inceleneceği çalışmaların önemi ve gereksinimi ise yüksektir. Oral mikrobiyomun neden olabileceği ağız dışı infeksiyonlar ve enflamasyonlarda oral bakterilerin mobil mikrobiyomdaki rolü net olarak anlaşılabilirdiğinde, daha etkili tedavilerin ve koruyucu önlemlerin planlanabileceği düşünülmektedir.

Bu tez çalışması, 5-15 yaş grubu, konjenital kalp hastalığı bulunan ve sağlıklı kontrol grubu çocuklardan elde edilen venöz kan ve tükürük örneklerinin analiz edilerek kan dolaşımı ve ağız boşluğundaki bakteri varlığı ve çeşitliliğinin incelenmesi; oral mikrobiyomun ağız içi indeks değerleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi amacı ile gerçekleştirilmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. İnsan Mikrobiyomu Ve Oral Mikrobiyom

#### 2.1.1. İnsan Mikrobiyom Projesi

İnsan Mikrobiyom Projesi (Human Microbiome Project, HMP), Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) 2007 yılında Ulusal Sağlık Enstitüsü (National Institute of Health, NIH) tarafından Tıbbi Araştırma Yol Haritası (Roadmap for Medical Research) girişimi olarak 'İnsan Genom Projesi'nin (Human Genome Project) bir devamı olarak başlatılmıştır (<http://www.hmpdacc.org/>). Bu projede, insan vücudundaki mikroorganizmaların farklı fonksiyonlarını ve karşılıklı etkileşimlerinin incelenmesi ile bu mikroorganizmaların konağın fizyolojisi ve sağlığı üzerine etkilerinin ve ilişkilerinin araştırılması, sağlıkta ve hastalık durumlarında insan mikrobiyomunda meydana gelen değişimlerin ve özelliklerin belirlenmesi ile insan mikrobiyomunun sağlıkta ya da hastalıkta nasıl değiştiğinin araştırılması amaçlanmıştır. Araştırmacılar İnsan Mikrobiyom Projesi'nin insani ve mikrobiyal bileşenlerden oluşan bir supraorganizma olduğumuz gerçeğini yansıttığını vurgulamaktadır (Turnbaugh ve ark. 2007).

İnsan Mikrobiyom Projesi kapsamında olmak üzere Dental ve Kraniofasyal Araştırmalar Ulusal Enstitüsü (The National Institute of Dental and Craniofacial Research, NIDCR) desteğiyle İnsan Ağız Mikrobiyom Projesi (Human Oral Microbiome, HOM) Chen ve ark. tarafından yürütülmekte ve İnsan Ağız Mikrobiyom Veritabanı (Human Oral Microbiome Database, HOMD) ([www.homd.org](http://www.homd.org)) oluşturulmaktadır. İnsan Ağız Mikrobiyom Projesi'nde 9 ağız içi bölge belirlenmiştir. Bu bölgeler: bukkal mukoza, sert damak, keratinize dişeti, tonsilla, yumuşak damak, tükürük, subgingival plak, supragingival plak, boğaz ve dil sırtıdır ve son bilgilere göre 688 taksondan oluşmaktadır (Chen ve Dewhirst 2015). İnsan Ağız Mikrobiyom Projesi sayesinde sağlık ve hastalıkla ilgili bakteri türlerinin karşılaştırılabileceği, uygulanan tedavilerin ağız ekolojisi üzerine etkisi izlenebileceği ve mikrobiyotasının sistemik sağlıkla ilişkisi daha iyi anlaşılabilceği belirtilmektedir (Külekcı 2013).

### 2.1.2. Oral Mikrobiyom

Ağız boşluğu, dişler, dental plak, periodontal aralık ve cepler, dil dorsumu ve diğer mukozal yüzeyler gibi çeşitli nişlerde bulunan benzersiz ve çeşitli bakteriler ile insan mikrobiyomunun vazgeçilmez bir parçasını oluşturur. Ağız boşluğundaki bu bakteri türlerinin çoğu 'normal mikrobiyota' üyeleri olarak tanımlanır ve genel olarak komensalizm fenomeni özelliğini gösterir (Tablo 2-1). “Oral mikrobiyom” ağız boşluğundaki mikrobiyota ile mikrobiyotanın genetik elementlerinin (genomlarının) ve çevresel etkileşimlerin tümünü tanımlar (Külekçi 2013).

Ağız boşluğundaki mikrobiyom, 'yaşayan' bir dinamik varlıktır. Bununla birlikte, dilin, bukkal mukozanın, diş yüzeylerinin, dişeti oluklarının ve protezler, ortodontik apareyler gibi suni yüzeylerin mukozal yüzeylerinde nispeten iyi kurulmuş bakteri biyofilm toplulukları bulunur (Samaranayake 2006).

Oral bakteriyel biyofilmin, özellikle de subgingival plak biyofilminin benzersiz bir özelliği de insan vücudunda bakterilerin yaygın olarak bulunduğu diğer bölgelerden farklı olarak, yoğun vaskülarizasyonu olan alanlara yakınlığıdır. Örneğin kutanöz mikrobiyotanın dolaşıma girmesi nispeten kalın ve geçirgen olmayan keratinize tabakalar tarafından engellenirken, gastrointestinal ve genitoüriner kanal mukoza mikrobiyotası mikroorganizmaları sürekli kontrol altında tutan zengin submukozal lenfatik ağlar tarafından yönetilir. Bu mukozaları kaplayan epitel tabakası bakteriyel mikrobiyotanın kolonizasyonuna izin vermeyecek şekilde sürekli olarak yenilenir. Oral biyofilm ise, rahatsız edilmeden bırakılırsa, olgunlaşarak dentogingival bağlantı bölgesinde diş yüzeylerinde kalıcı topluluklar kurabilir (Nanci ve Bosshardt 2006).

Sağlıklı bir ağızda oral mikrobiyomun > 3600 benzersiz sekans, 1660 çekirdek sekans, > 500 farklı filotip, 88-104 cins ve başta Firmicutes (*Streptococcus* cinsi, Veillonellaceae ailesi, *Granulicatella* cinsi), Proteobacteria (*Neisseria* ve *Haemophilus* cinsleri), Actinobacteria (*Corynebacterium*, *Rothia* ve *Actinomyces* cinsleri), Bacteroidetes (*Prevotella*, *Capnocytophaga* ve *Porphyromonas* cinsleri) ve Fusobacteria (*Fusobacterium* cinsi) filumları olmak üzere üstün taksonlar bulunduğu bildirilmiştir (Zaura ve ark. 2009; Külekçi 2013).

Ağız boşluğundaki bakteri varlığı ve çeşitliliğini inceleyen çalışmalarda çeşitli bakteri türlerinin diş çürüğü ve periodontal hastalıklarla sıklıkla ilişkilendirildiği bilinmektedir. *Streptococcus mutans*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*,

*Scardovia wiggsiae*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* gibi bakteri türlerinin çocuklarda ağız boşluğunda sıklıkla izole edilen bakteri türleri olduğu, diş çürüğü ve periodontal sorunların oluşumunda önemli rol oynadığı bildirilmektedir.

**Tablo 2-1: Oral mikrobiyomda bulunan bakteri aileleri ve cinsleri (Parahitiyawa 2009)**

Aile	Cins	Aile	Cins
<i>Firmicutes</i>	<i>Abiotrophia</i>	<i>Fusobacteria</i>	<i>Leptotrichia</i>
	<i>Anaerococcus</i>		<i>Fusobacterium</i>
	<i>Anaeroglobus</i>		
	<i>Bulleidia</i>		<i>Actinobacteria</i>
	<i>Butyrivibrio</i>	<i>Actinomyces</i>	
	<i>Catonella</i>	<i>Atopobium</i>	
	<i>Centipeda</i>	<i>Corynebacterium</i>	
	<i>Dialister</i>		<i>Rothia</i>
	<i>Eubacterium</i>		
	<i>Filifactor</i>	<i>Synergistes</i>	<i>Synergistes</i>
	<i>Gemella</i>		
	<i>Granulicatella</i>	<i>Spirochaetes</i>	<i>Treponema</i>
	<i>Johnsonella</i>		
	<i>Lactobacillus</i>	<i>Proteobacteria</i>	<i>Kingella</i>
	<i>Megasphaera</i>		<i>Lautropia</i>
	<i>Micromonas</i>		<i>Neisseria</i>
	<i>Mogibacterium</i>		<i>Haemophilus</i>
	<i>Paenibacillus</i>		<i>Desulfobulbus</i>
	<i>Peptococcus</i>		<i>Cardiobacterium</i>
	<i>Peptostreptococcus</i>		<i>Camphylobacter</i>
<i>Schwartzia</i>			
<i>Selenomonas</i>	TM7		TM7 Clone
<i>Solobacterium</i>			
<i>Staphylococcus</i>	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Capnocytophaga</i>	
<i>Streptococcus</i>		<i>Porphyromonas</i>	
<i>Veillonella</i>		<i>Tannerella</i>	
		<i>Prevotella</i>	
		<i>Bacteriodes</i>	

### 2.1.2.1. *Streptococcus mutans*

*Streptococcus mutans* çoğunlukla insan ağız boşluğunda bulunan Gram-pozitif, katalaz negatif, hareketsiz, sporsuz, yuvarlak veya oval yapılı, fakültatif anaerob bir bakteridir ve aktif diş çürüklerinde en fazla izole edilen streptokoktur (Wang ve ark. 2001). İlk olarak 1924'ye J. Kilian Clarke tarafından tanımlanmış ve diş çürüğü ile ilişkilendirilmiştir (Clarke 1924). Yüksek oranda asidojenik ve asidofilik olan *S. mutans*, basit karbonhidratları hızlı bir şekilde organik asitlere parçalayabilir ve asidik ortamlarda bile yaşamını sürdürebilir. Diş minesini demineralize eden asit üretimin yanı sıra, oksijen toleransı, bakteriyosin üretimi, diş yüzeyine adezyon ve kolonizasyon gibi virülans özellikleri, çürük oluşumunda etkin rol oynar (Palmer ve ark. 2013). *S. mutans*, sükröz bağımlı [glukoziltransferazlar (GTFs) ve fruktoziltransferazlar (FTFs)] ve sükrözden bağımsız (AgI/II adezin) mekanizmalarıyla diş yüzeyine yapışarak kolonize olur ve mikrobiyal dental plak formasyonuna katkıda bulunur (Nobs ve ark. 2009).

*S. mutans*, başlangıçta serotipe-spesifik ramnoz glikoz polisakkaritleri (RGPs) kimyasal bileşimine dayalı olarak üç serotipe (c / e / f) göre sınıflandırılmıştır (Linzer ve ark. 1986). Bununla birlikte, yakın zamanda *S. mutans*'ın kan izolatlarında elde edilen ve serotip *k* olarak adlandırılan yeni bir serotip tanımlanmıştır. Diş çekimi sonrası enfektif endokardit ve bakteremi gelişen hastalardan izole edilen dört streptokok suşu, biyolojik özellikleri ve 16S rRNA dizileme teknikleri ile *S. mutans* olarak tanımlanmış, bu suşlardan ikisinin serotip e ve serotip f'ye ait oldukları gösterilirken, kalan iki suşun (TW295 ve TW871) serolojik olarak tipi tespit edilememiştir (Fujiwara ve ark. 2001). *S. mutans* 'ın serotipe spesifik polisakkaritleri, ramnoz ve yan zincirleri  $\alpha$  ya da  $\beta$ -bağlı glukozidik artıklardan oluşan ramnoz-glükoz polimerlerinden oluşur. TW295 ve TW871 suşlarının serolojik olarak tanımlanamayan özellikleri, serotipe spesifik polisakaritte bir glikoz yan zincirinin olmamasından kaynaklanmaktadır. c,e ve f serotiplerine ait olmayan bu yeni suş, serotip *k* olarak sınıflandırılmıştır (Nakano ve ark. 2004a). Topçuoğlu ve ark. kalp ve sağlıklı çocukların kalp dokusu ve tükürük örneklerinin analiz edildiği çalışmada, kalp dokusu örneklerinde bakteri varlığı saptanmadığını, *S.mutans*'ın kalp hastası grubu tükürük örneklerinin %76'sında ve kontrol grubu örneklerinin % 60'ında; serotip *k*' nin ise yalnızca kalp grubu tükürük örneklerinden üçünde (%12) saptandığını bildirmişlerdir (Topcuoglu ve ark. 2013).

*S. mutans*'ın serotipe spesifik RGP'lerinin, insan monosit ve fibroblast hücrelerine yapışmada önemli rol oynadığı ve en etkili sitokin uyarıcı bileşenleri olduğu belirtilmektedir (Engels-Deutsch ve ark. 2003). RGP'lerin insan trombositlerine doğrudan bağlanmalarına ve agregasyonuna imkan veren özelliklere sahip oldukları gösterilmiştir (Chia ve ark. 2004). Buna ek olarak, RGP'lerin hidrofilik yapısının, insan polimorfonükleer (PMN) lökositleri tarafından fagositoza direnç ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Tsuda ve ark. 2000).

Ağız boşluğundan izole edilen *S. mutans* suşlarının yaklaşık %70-80'i serotip c, %20'si serotip e, %5'ten azı ise serotip f olarak tanımlanmaktadır. Yeni bir serotip olan serotip k'nın bulunma sıklığının % 2 - 5 arasında değişmektedir (Nakano ve ark. 2010a; 2009b; Topcuoglu ve ark. 2013). Nakano ve ark. Japonya'da 2-18 yaş arası 200 çocuk üzerinde ile gerçekleştirilen bir araştırmada, tükürük örneklerinin %2-5'inde *S. mutans* serotip k tespit edildiğini bildirmişlerdir (Nakano ve ark. 2004b). Serotip k suşlarının, glikoz yan zincirlerinin miktarında belirgin bir azalma olduğunu, bu sayede daha düşük antijenisiteye sahip oldukları ve insan polimorfonükleer lökositler tarafından fagositoza daha az duyarlı oldukları gösterilmiş, bu özelliklerinin kalp hastalıklarıyla ilişkilendirilmelerinde etken olabileceği belirtilmiştir (Fujiwara ve ark. 2001; Nakano ve ark. 2004a).

Japonya'da 848 infektif endokardit vakası üzerinde gerçekleştirilen bir araştırma, en sık rastlanan etken mikroorganizmanın %50 ile streptokoklar olduğunu göstermiştir (Nakatani ve ark. 2003). *S. mutans*'ın da kardiyak örneklerde ve infektif endokardit vakalarında kanda en sık izole edilen streptokok olduğu pek çok çalışmada bildirilmiştir (Fujiwara ve ark. 2001; Nomura ve ark. 2006; Nakano ve ark. 2007a). Ayrıca *S. mutans* serotip k'nın subakut endokardit hastalarının dental plak örneklerinde (%75), sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında (%20) anlamlı derecede daha yüksek oranda izole edildiği belirtilmiştir (Nakano ve ark. 2007b).

Lucchese *S. mutans*'ın yüzey antijenleri I/II'nin insan kardiyovasküler otoantijenlerinin peptitleri ile büyük oranda ortak olduğu için mobil mikrobiyomdaki *S. mutans*'ın otoimmün çapraz reaksiyonlara sebep olarak otoimmün kardiyovasküler hastalıklarda etkin olduğunu bildirmiştir (Lucchese 2017).



### 2.1.2.2. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

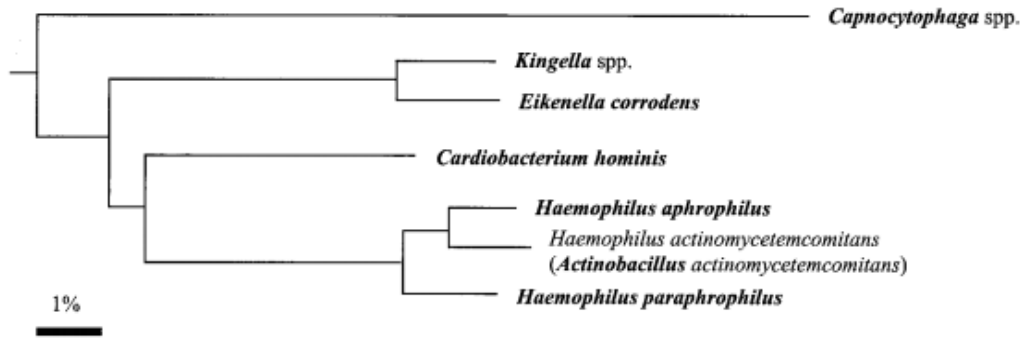
Gram negatif, fakültatif anaerobik, yavaş üreyen, hareketsiz, kapsülsüz bir periodontal patojen olan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, ilk olarak 1912 yılında *Bacterium actinomycetemcomitans* olarak tanımlanmış, 1929 yılında *Actinobacillus actinomycetemcomitans* olarak yeniden adlandırılmış, 1985 yılında ise ismi *Haemophilus actinomycetemcomitans* olarak değiştirilmiştir (Potts ve ark. 1985). 2006 yılında ise DNA homolojisi ve 16S rRNA sekanslama çalışmaları sonucu *Haemophilus aphrophilus* ve *Haemophilus segnis* ile yakın ilişkileri tespit edilmiş, bu üç tür *Pasteurellaceae* ailesine ait yeni bir sınıfa transfer edilmiş ve *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* adını almıştır (Norskov-Lauritsen ve Kilian 2006).

*A. actinomycetemcomitans* tipik olarak katalaz pozitif ve oksidaz negatiftir, ancak bazı suşlar oksidaz üretebilir. Nitratları nitrite indirger, üreaz ve indol negatiftir. Glikoz, fruktoz, maltoz, manoz, ksiloz ve manitol gibi karbonhidratları fermente edebilir, galaktoz, laktoz, rafinoz, sorbitol, sukroz, trehaloz ve gliserolü fermente edemez (Norskov-Lauritsen ve Killian 2006). King ve Tatum, biri manitolü fermente eden ancak ksilozu edemeyen, diğeri ksilozu fermente eden ancak manitolü edemeyen olmak üzere iki biyokimyasal grup tanımlamıştır (King ve Tatum 1962). Daha sonra çeşitli biyotipler ve serotipler tanımlanmış, ve bir endokardit vakasında izole edilen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*'ın hastanın oral mikrobiyomundan kaynaklandığını göstermek için serotipleme kullanılmıştır (Pierce ve ark. 1984). Altı farklı serotipi (a-f) bulunan *A. actinomycetemcomitans*'ın serotip dağılımının coğrafik özelliklere ve bireyin periodontal sağlığına göre farklılıklar gösterdiği belirtilmiştir (Haubek 2010).

İnsan ve eski dünya maymunlarının ağız boşluğunda kolonize olan *A. actinomycetemcomitans*'ın supragingival diş yüzeylerindeki olgunlaşmamış dental plak biyofilminde ilk çoğalabilen periodontal patojenlerden biri olduğu bildirilmiştir. Ergenlik çağında ortaya çıkan agresif bir periodontal hastalık formundaki lokalize agresif periodontitisin (LAP) ve akut nekrotizan ülseratif gingivitistin patogeneğinde etkin olduğu bilinmektedir. *A. actinomycetemcomitans*'un periodontal bakımdan sağlıklı 11 yaşından küçük çocukların %0-26'sında, prepubertal periodontitisli veya diğer erken başlangıçlı periodontitisli hastaların %40-100'ünde, lokalize juvenil periodontitis lezyonlarının %75-100'ünden izole edildiği bildirilmiştir. Bu mikroorganizma,

periodontitisin yetişkin formlarında da görülür, ancak daha az sıklıkta izole edilmektedir (Slots ve Ting 1999; Isaza ve ark. 2008; Psoter ve ark. 2011).

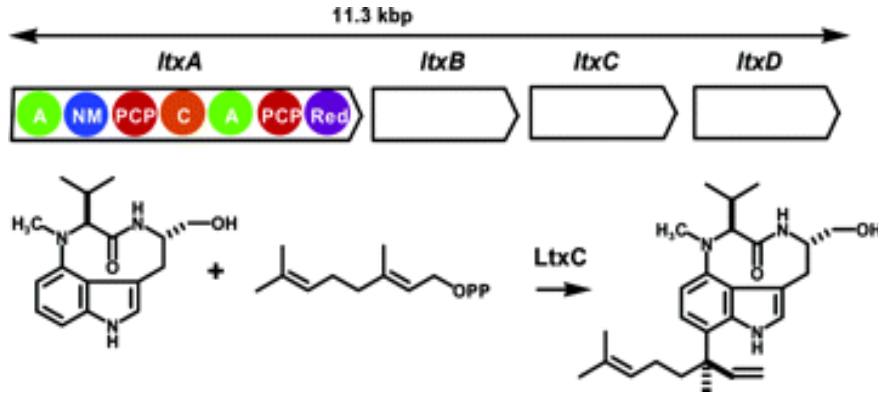
*A. actinomycetemcomitans*'ın doğal habitatının insan ağız boşluğu olduğu belirtilmekle beraber beyin apsesi, kavernoöz sinüs infeksiyonu, endoftalmit, lenfadenit, septik artrit, osteomyelit, tenosinovit, kalp pili infeksiyonları, perikardit, pnömoni, gebelik septisemisi ve idrar yolu infeksiyonlarında da izole edildiği bildirilmiştir (Taylor ve Selwyn). *A. actinomycetemcomitans* ve HACEK grubunun diğer üyeleri (*Haemophilus* türleri, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* ve *Kingella* türleri) birincil olarak bakteriyel endokardit ile ilişkilidir ve endokardit vakalarının %3'ünde sorumludur (Şekil 2-1). HACEK grubu mikroorganizmaların ortak özellikleri sıklıkla orofarenkte kolonize olmaları, orofarenksi sık sık kolonize ettikleri, yavaş üremeleri ve karbondioksit varlığında üreme hızlarının artmasıdır (Das ve ark. 1997). Endokardit etkenleri üzerine yapılan bir derlemede *A. actinomycetemcomitans*'ın HACEK grubu içerisinde endokarditten sorumlu ikinci en sık rastlanan etken olduğu belirtilmiştir. Bildirilen 399 vaka incelendiğinde, *Aggregatibacter aphrophilus* 99, *A. actinomycetemcomitans* 93, *Cardiobacterium hominis* 76, *Haemophilus parainfluenzae* 66, *Kingella kingae* 28, *Eikenella corrodens* 19, *H. influenzae* 13 ve *Kingella denitrificans* 5 vakada izole edilmiştir (Brouqui ve Raoult 2001).



**Şekil 2-1: HACEK grubu bakterilerin 16SrRNA dizileme analizine dayalı filogenetik analizi**

*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*'ın patogenezi, konak savunması karşısında hayatta kalmasını sağlayan invazyon-adezyon yeteneği, bakteriyosin, kemotaksin inhibitor faktör, sitotoksik faktörler, immunsupresif faktörler, Fc-bağlayıcı

proteinler, kollajenazlar, antibiyotik direnç faktörü ve sitotoksik faktörler gibi çeşitli virülans faktörlerine bağlıdır. Bakterinin Sitoletal Distending Toksin (CDT) ve lökotoxin olmak üzere iki farklı sitotoksik ekzotoksin salgıladığı bilinmektedir. CDT'lerin konak hücrenin proliferasyonu bloke ederek ölümüne sebep olurken, Repeats-in-Toxin (RTX) bakteriyel sitolizin ailesinin üyesi olan lökotoxin (LtxA) ise insan polimorfo hücreli lökositleri ve makrofajları tahrip ederek periodontal dokuların savunma fonksiyonunu bozduğu, ayrıca yüksek konsantrasyonda lökotoxin salgısının insan eritrosit ve lenfositlerini de etkilediği belirtilmiştir. *A. actinomycetemcomitans*'ın tanımlanan ilk ekzotoksini olan lökotoxin (LtxA), konak immune yanıtını atlatmak için bakterinin kullandığı bir mekanizmadır ve virülansının belirleyiciliğinde büyük rol oynamaktadır. LtxA lökotoksini, 11,3 kilobaz çiftten oluşan, *ItxCABD* (Lyngbyatoxin) olarak adlandırılan dört kodlayıcı geni içeren multigen bir operon tarafından kodlanmıştır (Şekil 2-2). *ItxC* geni toksinin translasyon sonrası asilasyonu için gerekli protein, *ltxA* geni toksini, *ltxB* ve *ltxD* geni toksinin dış membran taşıma sistemlerinin komponentlerini kodlar. Lyngbyatoxin (*ltx*) operonu tüm *A. actinomycetemcomitans* suşlarında mevcut olmakla birlikte, toksin ekspresyon seviyeleri suşlar arasında büyük farklılıklar göstermektedir (Isaza ve ark. 2008).



**Şekil 2-2: Lyngbyatoxin gen kümesi ve ltxA, B, C, D biyosentezi (Edwards ve Gerwick 2004)**

*A. actinomycetemcomitans* suşlarının *b* serotipinde, yüksek seviyede lökotoxin aktivitesi gösteren bir alt popülasyonunda lökotoxin gen operonunun promotör bölgesindeki karakteristik bir 530 baz çiftlik (bp) bir delesyon tespit edilmiştir (Brogan ve ark. 1994). Daha sonraki çalışmalarda bu delesyona sahip spesifik suşların daha sonra “JP2 klonu” olarak adlandırılan belirli bir klonal gruba ait olduğu gösterilmiş; JP2

klonunun agresif periodontitisle yüksek oranda ilişkili olduğu bildirilmiştir (Haubek ve ark. 1996; 2010). Yüksek lökotoksin ekspresyonunun periodontal hastalık oluşumu ile ilişkili olduğu belirtilmiş, periodontal hastalığı bulunan bireylerden izole edilen *A. actinomycetemcomitans* suşlarının periodontal açıdan sağlıklı bireylerden izole edilenlere oranla lökotoksisitelerinin anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir. (Brogan ve ark. 1994; Zambon ve ark. 1996). Yüksek lökotoksin aktivitesine sahip JP2 klonu varlığı ile adolesanlarda periodontitisin başlangıcı ve ataşman kaybı arasında anlamlı bir ilişki olduğu saptanmış, LtxA' nın periodontitisin patogenezinde önemli bir rolü olduğu bildirilmiştir (Johansson 2011). Kalp hastası ve sağlıklı çocukların tükürük örneklerinde *A. actinomycetemcomitans*'ın incelendiği çalışmada, kalp hastası çocuklarda *A. actinomycetemcomitans*'ın pozitif olduğu tükürük örneklerinde yüksek lökotoksik suş (JP2 klon) bulunmadığı, ancak kontrol grubu sağlıklı çocuklarda *A. actinomycetemcomitans* pozitif saptandığı beş örneğin birinde yüksek lökotoksik suş (JP2 klon) saptandığı belirtilmiştir (Bozdoğan 2013).

Yüksek lökotoksik JP2 klonunun prevalansı etnik gruplar arasında farklılık gösterdiği belirtilmiş, sıklıkla Kuzey Afrika kökenli popülasyonlarla ilişkilendirilmiştir. Fas, Cezayir ve Gana'lı adolesanlarda, Kuzey Avrupa'da Kuzey Afrikalı göçmenlerde, Amerika'da ise Afro-Amerikanlarda izole edilen JP2 klonuna Latin Amerika, Asya ve Avrupa'da nadiren rastlandığı bildirilmiştir (Haubek ve ark. 1995; 1997; Contreras ve ark. 2000; Haubek ve Westergaard 2004; Leung ve ark. 2005; Lafaurie ve ark. 2007; Haubek ve ark. 2008; Herrera ve ark. 2008; Kim ve ark. 2009; Claesson ve ark. 2011; Höglund Åberg ve ark. 2014).

### **2.1.2.3. *Fusobacterium nucleatum***

Gram-negatif, anaerob, hareketsiz, sporsuz bir basil olan *Fusobacterium nucleatum*, glikoz ve peptonun fermantasyonunun önemli bir ürünü olan bütirik asit üretme kabiliyeti ile diğer Gram negatif, sporsuz basillerden ayrılır. *F. nucleatum*, enerji sağlamak için amino asit katabolizmasını kullanan birkaç sporsuz anaerobik türden biridir. Enerji metabolizması için glutamat, histidin ve aspartat kullanan bakteri, glikozu ana enerji kaynağı olarak kullanmaz, yalnızca hücre içi moleküllerin biyosentezi için kullanır (Bolstad ve ark. 1996).

*F. nucleatum*, hem hastalıklı hem de sağlıklı bireylerde ağız boşluğunda en sık izole edilen türlerden biridir (Field ve ark. 2012; Loozen ve ark. 2014) ve marjinal gingivitten, kronik periodontitis, lokalize agresif periodontitis, yaygın agresif periodontitise, pek çok periodontal hastalıkta rol alır. *F. nucleatum* prevalansının periodontal hastalığın şiddeti, enflamasyonun ilerlemesi ve cep derinliğiyle ilişkili bir şekilde arttığı bildirilmiştir (Riep ve ark. 2009; Yang ve ark. 2014). Pulpa nekrozu ve periapikal periodontitis gibi endodontik infeksiyonlarla da sıklıkla ilişkilendirilmiştir (Siquera ve Rocas 2009; Didilescu ve ark. 2012). *F. nucleatum*' un *nucleatum*, *polymorphum*, *vincentii*, *fusiform* ve *animalis* olmak üzere beş alt türü tanımlanmıştır. Beş alt tür arasında *ss fusiforme* ve *ss vincentii* sıklıkla sağlıklı ilişkilendirilirken, *ss nucleatum* hastalıkla ilişkilendirilir (Lourenco ve ark. 2014). Gingivitis ve periodontitisli bireylerde tükürükte *F. nucleatum* seviyesinin sağlıklı bireylere oranla yüksek olduğu, periodontal hastalık varlığında *F. nucleatum* serum antikör titrelerinin yükseldiği belirtilmektedir (Han 2015; Zhou ve ark. 2015). Hayvan çalışmaları, *F. nucleatum*'un periodontal infeksiyonlardaki rolünü desteklemektedir. Farelerde sadece *F. nucleatum* ile oluşturulan infeksiyonların periodontal kemik kaybı veya apseyi indüklediği, *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* ve *Streptococcus* ile kombine infeksiyon oluşturulduğunda ise virülansta meydana gelen sinerji sonucu artmış kemik kaybı, apse veya ölüm gözlemlendiği bildirilmiştir (Kuriyama ve ark. 2000; Kesavalu ve ark. 2007; Chaushu ve ark. 2012).

Başta insan olmak üzere memelilerin ağız boşluğunda pek çok bölgeden izole edilebilen bir oral bakteri olan *F. nucleatum*'un ağız dışı vücut infeksiyonlarında da en sık görülen tür olduğu belirtilmiştir; kolorektal kanser, pankreas kanseri, oral kanserler, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, apandisit, ateroskleroz, beyin anevrizmaları, solunum yolu infeksiyonları, organ apseleri, romatoid artrit ve Alzheimer ile ilişkilendirildiği pek çok çalışma mevcuttur (Han 2011; Castellarin ve ark. 2012; Kostic ve ark. 2012; Gholizadeh ve ark. 2017). İntrauterin infeksiyonlarda amniyotik sıvı, fetal membran, kordon kanında en sık izole edilen anaerob bakteri olan *F. nucleatum*, koriamniyonitis, erken doğum, ölü doğum, preeklampsi, neonatal sepsis gibi pek çok gebelik komplikasyonu ile da ilişkilendirilmiştir (Gonzales-Marin ve ark. 2011; Han ve ark. 2009; 2010; Wang ve ark. 2013).

Oral kommensal bir bakterinin ağız içi ve ağız dışında bu kadar çok bölgede enfeksiyona sebep olabilmesini sağlayan, sahip olduğu iki ana virülans özellik vardır; (1) kolonizasyon ve yayılma ve (2) konak cevabı indükleme. *F. nucleatum* epitel ve endotel hücreleri, PMN'ler, monositler, eritrositler, fibroblastlar, tükürük makromolekülleri, hücre dışı matris proteinleri, insan IgG'si gibi konak molekülleri de dahil olmak üzere farklı tipte konak hücrelerine yapışma özelliğine sahiptir. *F. nucleatum* tarafından eksprese edilen yüzey adezini FadA, hücreye bağlanma ve invazyon prosesinde büyük rol oynar ve bakterinin ana virülans faktörlerindedir. FadA üretimi yalnızca yakın ilişkili iki cins olan *F. nucleatum* ve *F. periodonticum* tarafından kodlanır ve diğer Fusobacterium türlerinde bulunmaz (Han ve ark. 2005). FadA sadece adezin değil, aynı zamanda da invazindir. FadA, hücre bağlantı molekülleri olan kaderinlere bağlanarak bakterinin hücre bağlantılarından hücre içine geçişine olanak verir, endotel hücrelerin permeabilitesini artırır, böylece bakterinin hem direkt olarak hücre içine geçişini, hem de gevşemiş olan hücrelerarası bağlantılardan invazyonunu sağlar (Fardini ve ark. 2011). FadA adezinin *F. nucleatum*'un sistemik yayılma etkilili mekanizma olduğu düşünülmektedir. Hücre permeabilitesini arttıran *F. nucleatum* yalnızca kendi invazyonunu değil, aynı zamanda *Streptococcus cristatus* ve *Escherichia coli* gibi diğer türlerin de hücre içi ve hücreler arası geçişini kolaylaştırdığı gösterilmiştir (Edwards ve ark. 2006; Fardini ve ark. 2011). Bu fenomen, *F. nucleatum*'un sıklıkla miks enfeksiyonlarda bulunmasına da açıklık kazandırmaktadır (Han ve ark. 2009).

Dental plağın olgunlaşması sırasında birincil kolonize olan bakteriler kendi aralarında koagregasyon gösterebilmelerine rağmen ikincil kolonize olan bakterilerle agregasyon gösteremezler. *F. nucleatum* birincil ve ikincil kolonizasyon bakterileri arasında bir köprü görevi görerek oral biyofilmin oluşumunda önemli bir mikroorganizma olarak rol alır (Rickard ve ark. 2003; Hepdeniz ve Seçkin 2017).

#### **2.1.2.4. Porphyromonas gingivalis**

Gram-negatif, zorunlu anaerob, hareketsiz, sporsuz, asakkarolitik (karbonhidratları katabolize edemez) bir periodontal patojen olan *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas* olarak yeniden sınıflandırılmasından önce *Bacteroides gingivalis* olarak adlandırılmıştır. Üremesi için mutlak demire ihtiyaç duyan bu bakteri,

kanlı agarda heme birikimi nedeniyle 4-8 gün içinde siyaha dönen koloniler oluşturur. *Porphyromonas* adı, Yunanca mor anlamına gelen *porphyreos* ve ünite, birim anlamına gelen *monas*'tan gelmektedir (Shah ve Collins 1988). İlk olarak 1921 yılında Oliver ve Wherry tarafından ağız boşluğundan izole edilmiş ve kültürde oluşan siyah pigmentin melanin olduğu düşünülmüştür (Oliver ve Wherry 1921). Daha sonra bu pigmentin protohemin olduğu ve koruduğu anlaşılmıştır. Ayrıca heminin, siyah pigmentli mikroorganizmalar için büyüme faktörü olarak rol oynadığı da bilinmektedir. Yeteri kadar hemin bulunan ortamlarda *Porphyromonas*' lar katalaz aktivitesini arttırarak zorunlu anaerob formdan daha aerotoleran forma dönüşebilmektedir. Ancak bakterinin bütün suşları pigment oluşturma yeteneğine sahip değildir (Baumgartner ve ark. 2006).

*P. gingivalis* periodontitisin başlangıcında ve ilerlemesinde önemli rol oynayan patojenlerden biridir. Adezin üretim, fimbria, proteazlar ve kapsüler polisakkaritler gibi agregasyon sağlayan, doku yıkımına ve konak immün yanıtını bozan pek çok virülans faktöre sahiptir. Fimbrialar aracılığı ile tükürük kaplanmış hidroksiapatit yüzeylere, konak sert dokularına ve konak savunmasıyla ilişkili olan proline zengin proteine (PRP) tutunabilmektedir.

Ortamda bulunan hemin miktarının da *P. gingivalis*'in patojenitesi ile yakından ilgili olduğu bildirilmiştir. Hemin varlığında bakterinin ortama salgılayabildiği butirik asit, diş eti dokusunda IL-6, IL-8 ve IL-11 salınımını arttırmakta ve T lenfositler için toksik etki göstererek T lenfositlerin apoptozunu tetiklemektedir. *P. gingivalis*'in doğal üreme ortamı olan ağız boşluğunda hemin bulunmamasına rağmen bakteri ya mikrobiyotada bulunan *Campylobacter rectus* gibi bakterilerin sentezlediği hemini, ya da konak eritrositlerini ekstraselüler vezikülükleri içerisinde bulunan litik enzimleri ile parçalayarak elde ettiği hemini kaynak olarak kullanabilmektedir. Vezikülleri içerisinde bulunan bu litik enzimler, serum albumini, kazein, fibrinojen, fibronektin, tip 1 kollajen, eritrosit membran proteinleri, jelatin, transferin, hemoglobin, IgA, IgG gibi pek çok protein yapıda molekülü parçalayabilmektedir. Tip 1 kollajen yıkımı periodontal dokuların bütünlüğünü bozarken, tükürük ve diş eti oluşu sıvısındaki fibronektinin parçalanması da periodontal tamir mekanizmasının bozulmasına neden olmaktadır. Ayrıca streptokoklara bağlanarak fagositozlarını tetikleyen opsonin görevi yapan fibronektinin yıkımı, konağın streptokoklara karşı immün yanıtını bozmaktadır. Bakterinin sahip olduğu virülans faktörler, doku tamir mekanizmasında rol oynayan

matriks metalloproteinazlar (MMP) gibi pek çok enzimi de aktive ederek doku yıkımına sebep olmaktadır (Hang ve ark. 2004; Darveau 2010).

Oral kavitede *P. gingivalis* kolonizasyonunun düşük sayılarda bile oral mikrobiyotanın kompozisyonunda değişikliklere sebep olarak konak-mikrop homeostazını ve kompleman sistemini regüle ederek konak savunma sistemini bozduğu gösterilmiştir. Hayvan deneylerinde oral mikrobiyotik topluluğa *P. gingivalis*'in katılmasının, periodontal kemik kaybında belirgin bir hızlanmaya sebep olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, *P. gingivalis* tek başına, germ-free farelerde kolonize edildiğinde periodontitis oluşturmadağı ve ancak patojen içermeyen farelerde *P. gingivalis* kolonizasyonunun, toplam bakteri yükünde bir artışa ve mikrobiyal kompozisyonunda değişikliklere sebep olduğu bildirilmiştir (Hajishengallis ve ark. 2011). *P. gingivalis* oral mikrobiyomda düşük oranda bulunmasına rağmen yüksek virülansı sebebiyle, periodontal hastalıklarda “kilit taşı patojen” olabileceğı belirtilmektedir (Hayashi ve ark. 2010; Honda 2011; Han ve Wang. 2013). Kilit taşı tür, ekolojik bir topluluğun yapısını korumada kritik bir rol oynayan ve topluluk üzerindeki etkisinin, görece düşük sayılarına dayanarak beklenenden daha büyük olduğu bir türdür. “Kilit taşı tür” konsepti ilk olarak deniz organizmaları topluluğı üzerinde çalışan zoolog Robert T. Paine tarafından tanıtılmıştır (Paine 1969).

*P. gingivalis* ile düşük seviyelerde kolonizasyon bile, konak savunması sistemini bozarak oral kommensal bakterilerin sayısında artışa, buna bağılı olarak da enflamasyona yol açar. İnflamasyonlu periodontal dokulardaki eksüdat, bol miktarda parçalanmış protein ve önemli bir demir kaynağı olan hemin içerir; bu zengin besin kaynağı sayesinde, iltihap ortamı daha fazla bakteri gelişimine elverişli hale gelir. Bu çevresel değişiklikler proteolitik ve asakkarolitik organizmalar için uygun bir ortam yaratarak oral mikrobiyotanın bileşiminde değişikliklere sebep olur, enflamasyon, kemik rezorpsiyonu ve periodontal cep oluşumu hızlanır (Hajishengallis 2009; Darveau 2010).

*P. gingivalis*'in kardiyovasküler hastalıklar ile ilişkilendirildiğı pek çok çalışma mevcuttur. Bireyin sürekli tekrarlayan endotoksin, sitokinler, lipopolisakkarit ve diğere bakteriyel ürünlere sistemik olarak maruz kalması, homeostaz ve lipid metabolizmasını bozabilmekte, artmış inflamatuvar yanıtı sebep olmaktadır. Lipit dengesinin bozulması sonucu oluşan arteriyel enflamasyon, hemodinamik stres ve vasküler duvara yönelik



immün reaksiyonun komplike aterosklerotik lezyon oluşumuna yol açabileceği bildirilmiştir. Ateroskleroz, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklara zemin hazırlayan en önemli faktördür (Janket ve ark. 2003). *P. gingivalis*' in trombosit agregasyonunu, köpük hücre oluşumunu ve aterom gelişimini tetiklediği hayvan deneyleri ile gösterilmiştir (Li ve ark. 2002; Lalla ve ark. 2003; Qi ve ark. 2003). Ayrıca *P.gingivalis*'in fimbriaları ile aort ve kalp endoteline saldırdığı da bilinmektedir (Deshpande ve ark. 1998).

#### 2.1.2.5. *Scardovia wiggisiae*

*Scardovia wiggisiae*, anaerobik mikrobiyolojiye katkılarından dolayı Amerikalı mikrobiyolog Lois Wiggs'in onuruna adlandırılmış, *Bifidobacteriaceae* ailesine üye, gram-pozitif, anaerobik, spor oluşturmeyen, hareketsiz bir çomaktır. İnsan ağız boşluğundan izole edilmiş beş suş, enfekte yaralı koldan izole edilmiş bir suşu bulunmaktadır. Glukoz, sükroz, früktoz, galaktoz, maltoz gibi şekerleri fermente edebildiği, mannitol, sorbitol, ksiloz, dekstran, trehalozu fermente edemediği, laktoz fermentasyonunun ise değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir. (Downes ve ark. 2011).

Erken çocukluk çağı çürüklerinin etiolojisinde *S. mutans* ile birlikte etkili olduğu anaerob kültür ve PCR yöntemleriyle gösterilmiştir. Ayrıca şiddetli erken çocukluk çağı çürüklerinde *S. mutans*' in tespit edilemediği vakalarda da *S. wiggisiae*'nin izole edildiği bildirilmiştir (Tanner ve ark. 2011a; 2011b). Nekrotik süt dişi pulpasındaki bakteri popülasyonlarının kültür yoluyla belirlendiği bir çalışmada, *S. wiggisiae*'nin nekrotik süt dişi kanallarından yüksek oranda kültür edildiği ve bu türlerin derin dentin çürüklerinin ilerlemesinde rol oynayan mikrobiyal kompleksin önemli bir parçası olduğu belirtilmiştir (Ledezma-Rasillo ve ark. 2010).

Tanner ve ark. ortodontik tedavi gören adolesanlarda gerçekleştirdikleri qPCR çalışmasında, beyaz nokta lezyonlarının oluşumunda *S. wiggisiae*'nin anlamlı derecede yüksek tespit edildiğini bildirmiştir (Tanner ve ark. 2012). *Scardovia* türlerinin başlangıç mine lezyonlarında plak mikrobiyotasının etkin türlerinden olduğu ve özellikle *S. wiggisiae*'nin başlangıç mine lezyonlarının şiddetini arttırarak çürüğün ilerlemesinde etkili olduğu belirtilmiştir (Torlakovic ve ark. 2012).

Kressirer ve ark. *S. wiggisiae*'nin aside dirençli olmasının, düşük başlangıç pH değerlerinde pek çok şekerden asit üretebilmesinin ve arginin-deaminaz pozitif

olmamasının potansiyel karyojenitesi ile tutarlı özellikler olduğunu belirtmişlerdir. *S. wiggsiae*'nin karyojenitesi *S. mutans* ile paralel olarak bir hayvan deneyinde test edilmiş, *S. wiggsiae*'nin tek başına inoküle edildiği durumlarda minimal çürük oluşumu gözlenirken, *S. mutans* ile birlikte inoküle edildiğinde çürük oluşumunda belirgin artış gözlemlendiği bildirilmiştir (Kressirer ve ark. 2017).

## 2.2. Oral Mikrobiyomdaki Değişikliklerin Sebep Olduğu Lokal Etkiler

Oral mikrobiyomda meydana gelen değişiklikler (ekolojik kayma) üç ana lokal etkiye sebep olabilir; periodontal hastalıklar, diş çürüğü ve endodontik infeksiyonlar.

### 2.2.1. Diş Çürüğü

Diş çürüğü multifaktoriyel etiyolojiye sahip kompleks, önlenabilir ve durdurulabilir bir hastalık sürecidir. Dünyanın birçok ülkesinde önemli halk sağlığı problemlerinden biri olan diş çürüklerinin görülme sıklığı gelişmiş ülkelerde koruyucu diş hekimliği uygulamaları ile azalma gösterse de, gelişmekte olan ülkelerde ağız ve diş sağlığı ve koruyucu uygulamalara gereken önemin verilmemesi nedeni ile halen önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir (Selwitz ve ark. 2007; Aktören ve ark. 2015).

Diş çürüğünün oluşabilmesinde 4 önemli faktör vardır; birbirleri ile etkileşim içinde olan bu etiyolojik faktörler konak (tükürük ve dişler), mikrobiyota (plak), substrat (diyet) ve zaman'dır (Keyes 1962; Hurlbutt ve Young 2014). Germ free hayvan deneylerinde, deney hayvanlarına yüksek karbonhidrat içerikli diyet verilmesine karşın çürük oluşumu olmaması sonucunda, oral mikroorganizmaların çürük üzerindeki primer etkileri ispatlanmıştır (Orland ve ark. 1954; Fitzgerald ve ark. 1960).

Sağlıklı ağızda diş yüzeyleri öncelikle *Streptococcus mitis*, *S. sanguinis*, *S. oralis*, *S. parasanguinis*, *S. cristatus*, *Capnocytophaga granulosa*, *Abiotrophia defectiva* ve *Eubacterium spp* tarafından kolonize edilirken, diş çürüğü *S. mutans*, *Streptococcus spp.*, *Veillonella spp.*, *Actinomyces spp.*, *Bifidobacterium spp* ve *Lactobacillus fermentum* gibi bakterilerle ilişkilendirilmiştir. *Actinomyces gerencseriae* ve diğer *Actinomyces spp.* türleri ise sıklıkla başlangıç çürüklerinde izole edilmiştir (Munson ve ark. 2004; Corby ve ark. 2005; Aas ve ark. 2008). Mutans streptokokların asidojenik grubu olan *S. mutans* ve *S. sobrinus*, insanda en sık izole edilen türlerdir ve

diş çürüğü ile yakından ilişkili dental biyofilm bakterileridir (Erdem ve ark. 2012; Palmer ve ark. 2012). *S.mutans*'ın az olduğu durumlarda ya da yokluğunda *S. sobrinus*'un çürük oluşumu için alternatif patojen olabileceği bildirilmiştir (Gross ve ark. 2012). Aas ve ark., yaygın çürük lezyonların olan hastaların %10'unda *S.mutans*'ın ölçülebilir düzeyde olmadığını, *S. mutans* yokluğunda *Actinomyces* türleri ve non-mutans streptokokların çürük başlangıcında, *Veillonella*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Actinomyces* türlerinin çürüğün ilerlemesinde rol oynayabileceğini bildirmişlerdir (Aas ve ark. 2008). Benzer şekilde Topçuoğlu ve ark. tükürükte *S.mutans* serotype *k* varlığını araştırdıkları çalışmalarının sonucunda, çürük lezyonu bulunan çocuk hastaların %40'ında *S.mutans* 'ın ölçülebilir düzeyde olmadığını bildirmişlerdir (Topcuoglu ve ark. 2013).

### 2.2.2. Periodontal Hastalıklar

Periodontal hastalıkların patogeneziyle ilgili olarak bakteriyel toplulukların yapısındaki değişiklikler, geniş çapta incelenmiştir. Sağlıklı diş eti oluklarında yaşayan bakteri toplulukları ağırlıklı olarak *Streptococcus sanguinis*' in gram pozitif kokları, *Streptococcus oralis*, az sayıda spiroket ve rodlardan oluşur. Hastalık durumu kronik periodontitise doğru ilerledikçe, hastalıklı dokularda bulunan organizmaların üçte ikisinden fazlasını gram negatif olacak şekilde, mikrobiyal çeşitlilikteki kayma daha da belirginleştiği gözlenir (Samaranayake 2006).

Periodontal hastalığa neden olan bazı oral bakteriler arasındaki bağlantılar uzun süredir bilinmektedir. *Porphyromonas gingivalis* daima *Tannerella forsythia* ile birlikte bulunur ve özellikle derin periodontal ceplerde daha sığ olanlara oranla daha yüksek oranda saptanmıştır (Gmur ve ark. 1989). *P. gingivalis* ile *Treponema denticola* arasında da benzer birliktelikler tespit edilmiştir (Kigure ve ark. 1995; Simonson ve ark. 1992). Bu beraberlik muhtemelen metabolik etkileşimlerinin bağımlılığına bağlıdır ve bu durum, in vitro agregasyon çalışmalarıyla doğrulanmıştır (Grenier 1992). Socransky ve ark. gerçekleştirdikleri çalışmada subgingival bölgede kolonize mikrobiyal toplulukların ayrıntılı bir analizini yapmışlar ve 'kırmızı', 'turuncu', 'yeşil', 'sarı' ve 'mor' bakteri kümeleri olarak belirtilen beş farklı bakteri türü grubunu tanımlamışlardır. Kırmızı küme, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* ve *Tannerella forsythia* (eski adıyla *Bacteroides forsythus*); turuncu küme

*Peptostreptococcus macros*, *Campylobacter rectus*, *Campylobacter showae*, *Campylobacter gracilis*, *Eubacterium nodatum* ve *Streptococcus constellatus* içerir. Yeşil küme *Campylobacter concisus*, *Eikenella corrodens*, *Aggregatibacter aktinomycetemcomitans* ve *Capnocytophaga* türlerinden; sarı küme Streptokokların farklı türleri, ağırlıklı olarak *Streptococcus mitis* ve *Streptococcus sanguis*'den oluşmaktadır. Mor kümede ise *Actinomyces odontolyticus* ve *Veillonella parvula* bulunmaktadır. Artık kırmızı ve turuncu bakteri kümelerinin çeşitli derecelerde periodontal hastalıklar ile ilişkili olduğu ve diğer üç kümenin diş yüzeylerinin erken kolonize edicileri olduğu bilinmektedir. Bu erken kolonize olan bakterilerin metabolik özelliklerinin, dokuları virülansı yüksek kırmızı ve turuncu küme mikroorganizmalarının yapışması ve hayatta kalması için daha elverişli hale getirdiği ileri sürülmüştür (Socransky ve ark. 1998). Bunların dışında virülansı yüksek bakteri türlerinin % 90'dan fazlası zorunlu anaeroblardır ve *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythia*, *Aggregatibacter aktinomycetemcomitans* ve çeşitli *Capnocytophaga spp.* türlerini içerir (Stinson ve ark. 1991).

### 2.2.3. Endodontik İnfeksiyonlar

Sağlıklı dişte kök kanalları ve pulpa odası steril kabul edilir ve bakteri kolonizasyonu içermez. Bununla birlikte, diş çürüğü, periodontal hastalık, kimyasal ve fiziksel travma gibi patolojilerin sonucu olarak bu alan bakteriler tarafından kolonize edilir ve bu durum pulpa nekrozuyla sonuçlanır. Enfekte olmuş kök kanallarında bulunan en yaygın bakteri türü *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Pseudoramibacter alactolyticus*, *Micromonas micros* ve streptokoklardır. Ekspoz olmuş ve ekspoz olmamış pulpa odası ve kök kanallarında farklı kültür edilebilir bakteri türlerinin kolonize olduğu bilinmektedir. Örneğin, *Fusobacterium nucleatum* ve *Propionibacterium acnes* ekspoz olmamış pulpalı dişlerin kök kanallarında yaygın olarak bulunurken, *Prevotella spp.* ekspoz dişlerin kök kanallarında bulunmuştur (Chu ve ark. 2005). *Enterococcus fecalis* kolonizasyonu ise özellikle tekrarlayan kök kanal infeksiyonlarının ve tedavisinde başarısızlıklarının sorumlusu olarak tanımlanmaktadır (Sakamoto ve ark. 2008). Enfekte olmuş süt dişlerinin kanallarından alınan örneklerde ise *Fusobacterium nucleatum*'un en fazla izole edilen bakteri olduğu bildirilmiş

(%96,7), diğ er zorunlu anaerob bakteri türleri olan *Prevotella intermedia* (86.7%), *Parviromonas micra* (83.3%), *Treponema denticola* (76.7%) and *Tannerella forsythia* (66.7%) daha düşük oranlarda bulunurken, *C. rectus*(13.3%) ve *Eikenella corrodens* (6.7%) en az rastlanan bakteri olarak bildirilmiştir (Topcuoglu ve ark. 2013).

### 2.3. Oral Bakterilerin Sebep Olduğ u Sistemik Etkiler

Dental plak birikimi sonucu ortaya çıkan gingivitis ve kronik periodontitis gibi yaygın enflamasyon durumlarında sıklıkla periodontal dokuların vaskülarizasyonu artar, kan damarları geniş ir ve mikroorganizmaların kan dolaş ımına girmesini kolaylaş tıran daha büyük bir yüzey alanı meydana gelir. Ç ođ u zaman, bu bakteremi kısa süreli ve geç ici olup, bakteriyel geç iş in ardından ilk 30 dakika en yüksek yoğunluktadır. Bazı durumlarda ise dolaş ımdaki mikroorganizmalar hedef organlara yerleş erek subklinik, akut veya kronik infeksiyonlara neden olabilir. İ nfektif endokardit, odontojenik kökenli baktereminin en iyi bilinen komplikasyonudur ve diş hekimleri, kardiyologlar ve mikrobiyologlar için ciddi bir endiş e kaynağ ıdır (Samaranayake 2006).

Oral bakterileri ađ ız-dış ı sistemik infeksiyonlarla bağ layan 3 mekanizma tanımlanmıştır; oral bakterilerin geç ici bakteremi yoluyla oluşturduğ u metastatik infeksiyonlar, oral bakterilerin toksinlerin dolaş ıma karış masıyla meydana gelen metastatik hasarlar ve oral bakterilerin yarattığ ı immünolojik yanıt sebebiyle geliş en metastatik enflamasyonlardır. Bu nedenle, bakterilerin bakteremi yoluyla sistemik dolaş ıma geç iş yaparak ilgili ađ ız dış ı bölgede infeksiyona sebep olabilmelerinin yanı sıra, sahip oldukları endotoksinlerin dokuda yarattığ ı hasarla metastatik hasarlar ve bakterilerin ç özünür antijenlerinin dolaş ımdaki spesifik antikorlarla reaksiyona girip makromoleküler bir kompleks oluşturmasıyla ađ ız dış ı bölgelerde akut ve kronik enflamatuvar reaksiyonlar geliş ebileceğ i bilinmelidir (Li ve ark. 2000). Oral bakterilerin ađ ız dış ı infeksiyonlardaki olası etki mekanizmaları ve sebep oldukları hastalıklar ař ađ ıda gösterilmiştir (Tablo 2-2).

**Tablo 2-2: Oral bakterilerin ağız dışı infeksiyonlardaki olası etki mekanizmaları (Li ve ark. 2000)**

<b>Etkin mekanizma</b>	<b>Ağız-dışı sistemik hastalıklar</b>
Geçici bakteremi yoluyla ağız içinden metastatik ..... infeksiyon	Subakut infektif endokardit, akut bakteriyel miyokardit, beyin apseleri, kavernöz sinüs trombozu, sinüzit, Ludwig anjini, akciğer apseleri, orbital selülit, cilt ülserleri, osteomyelit, protetik eklem infeksiyonları
Oral bakterilerin toksinlerin dolaşıma karışmasıyla meydana gelen metastatik hasarlar	Beyin infarktüsü, akut miyokard infarktüsü, gebelik komplikasyonları, idiyopatik trigeminal nevralji, toksik şok sendromu, kronik menenjit
Oral bakterilerin yarattığı immünolojik yanıt sebebiyle gelişen metastatik enflamasyonlar	Behçet hastalığı, kronik ürtiker, üveit, enflamatuvar bağırsak hastalıkları, Crohn hastalığı

### **2.3.1. Mobil Mikrobiyom**

“Mobil mikrobiyom” kavramı ilk olarak 2013’te Han ve Wang tarafından ağız-dışı bölgelerdeki infeksiyon ve enflamasyonlarda oral bakterilerin rolünü tanımlamak için kullanılmıştır (Han ve Wang 2013). Çalışmalarda “circulating” mikrobiyom, metastatik bakteri olarak da tanımlanabildiği görülen mobil mikrobiyomun dış hekimliğinde fokal infeksiyon riski açısından öneminin yüksek olduğu bilinmektedir. Fokal infeksiyonu teorisi, ilk olarak 19. yüzyılın sonu ve 20. yüzyılın başlarında vurgulanmış ancak bilimsel tekniklerdeki yetersizlikler nedeniyle 1930’lardan itibaren gereken önem pek gösterilememiştir. Yakın zamanda kültürden bağımsız moleküler tanı tekniklerinin de kullanılmaya başlanmasıyla, ağız boşluğunun oral patojenlerin ve toksinlerinin sistemik yayılımı için bir rezervuar görevi gördüğü ve uzak vücut

bölgelerinde infeksiyon ve enflamasyonlara yol açtığı tespit edilmiştir. Oral patojenlerin ve toksinler, enflamatuvar moleküller gibi bakteriyel ürünlerin ağız-dışı bölgelere yayılımını tanımlayan “mobil mikrobiyom” hipotezini kullanarak oral infeksiyonların geniş spektrumlu sistemik etkilerini araştıran pek çok güncel çalışma gerçekleştirilmiştir (Borgnakke ve ark. 2014, 2015; Mai ve ark. 2014; Lucchese 2017; Mukherjee ve ark. 2017; Puri ve ark. 2017; Teles 2017).

Oral bakteriler ve oral bakteriyel DNA, aterosklerotik plak, koroner arter biyopsileri, plasental ve fetal dokular, sinoviyal sıvı, trakeobronkial bölge, akciğer aspiratları ve Alzheimer hastalarında beyin dokusu gibi pek çok ağız-dışı bölgeden izole edilmiştir (Teles 2017). *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Rothia dentocariosa*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia* ağız dışı bölgelerden izole edilen bakteriler olarak bildirilmektedir (Han ve Wang 2013).

Bakteriyel kültür ve mikroskopi yöntemlerindeki gelişmeler ve yeni nesil moleküler tekniklerin yardımıyla gerçekleştirilen yeni araştırmalar, bilinen patojenler dahil olmak üzere pek çok bakterinin kanda ve eritrositler içerisinde uyuyan (dormant) formda hayatta kalabildiğini ortaya koymuştur. Bu bakterilerin ana kaynağının bağırsak mikrobiyomu ve ağız kavitesi olduğu belirtilmiştir (Nikkari ve ark. 2001; Potgieter ve ark. 2015). Kanın eskiden sanıldığı gibi steril olmadığı, sağlıklı bireylerde bile zengin bir mikrobiyotaya sahip olduğu bilgisi, bu mikrobiyotanın rolü ve önemi üzerine dikkatlerin çekilmesine neden olmuştur. Obezite, diyabet, kalp yetmezliği, karaciğer hastalıkları, kanser, hematolojik bozukluklar gibi pek çok kronik hastalıkta ve nörodejeneratif hastalıklarda kan dolaşımındaki bakterilerin rolünü gösteren çalışmaların bildirildiği görülmektedir (Païssé ve ark. 2016).

Kandaki bakteriyel genom konsantrasyonunun diyabet başlangıcı ile ilişkilendirildiği bir çalışmada, obez olmayan genel bir popülasyondan gelen katılımcıların kanlarında ölçülen 16S rDNA miktarının, katılımcılarda 6-9 yıl içerisinde abdominal yağlanma ve diyabet görülme ihtimalini öngörmede kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Çalışma sonucunda ayrıca kan örneklerinde tespit edilen

bakteriyel DNA'nın % 90'dan fazlasının Proteobacteria ailesine ait olduğu bildirilmiştir (Amar ve ark. 2011).

Kalp hastaları ve sağlıklı bireylerdeki moleküler yöntemlerle mobil mikrobiyomun araştırıldığı bir çalışmada, 133 kalp hastasının 31'inde, sağlıklı kontrol grubunda ise 118 örnekten 10'unda bakteriyel 16S rRNA geni saptanmış, mobil mikrobiyomda kalp hastası grupta Proteobacteria / Firmicutes oranında sapmalar olduğu bildirilmiştir. Ancak direkt olarak kandan izole edilen 16S rRNA genlerinin kan dolaşımındaki canlı bakterilerden kaynaklanabileceği gibi cell-free serbest DNA (DNAemia) da olabileceği vurgulanmıştır (Rajendhran ve ark. 2013).

Alzheimer hastalığı ile ilişkilendirilen spiroketlerin araştırıldığı bir çalışmada, sağlıklı bireylerin kanlarında karanlık saha mikroskopisi ile canlı pleomorfik bakterilerin varlığı tespit edilmiştir (McLaughlin ve ark. 2002).

Mai ve ark. mobil mikrobiyomun ağız dışı bölgelerde kolonize olabildiğini ve sitokin benzeri biyokaktif komponentlerinin yaygın sistemik enflamasyona sebep olduğunu belirtmiş, periodontitisin sigara ile birlikte akciğer kanseri riskini arttırdığını bildirmişlerdir (Mai ve ark. 2014).

### 2.3.2. Odontojenik Bakteremideki Bakteri Çeşitliliği

Ağız boşluğunda yaşayan 700'den fazla bakteri türünün aksine, odontojenik bakteremilerde kan kültürlerinde nispeten daha az sayıda tür izole edilmiştir. Firmicutes ailesinin üyeleri, cins ve tür çeşitliliği bakımından en sık rastlanan bakterilerdir (Kazor ve ark. 2003; Aas ve ark. 2005). Bir dizi kontrollü klinik çalışmada streptokoklar, % 40-65 arası değişen sıklıklarla bakteremilerde izole edilen baskın cinsler olarak öne çıkmaktadır. Firmicutes ailesinden Abiotrophia, Dialister, Selenomonas ve Solobacterium cinsleri de daha düşük oranlarda kültüre edilmişlerdir (Roberts ve ark. 1997; Wahlmann ve ark. 1999; Diz Dios ve ark. 2006; Forner ve ark. 2006; Roberts ve ark. 2006; Tomas ve ark. 2007).

Mobil mikrobiyom terimini ilk olarak kullanan araştırmacılar olan Han ve Wang *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Rothia dentocariosa*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*,



*Streptococcus oralis*, *Treponema denticola* ve *Tannerella forsythia*'nın ağız dışı bölgelerden en sık izole edilen oral bakteriler arasında olduğunu belirtmişlerdir (Han ve Wang 2013).

### **2.3.3. Bakterilerin Kan Dolaşımına Geçişi**

Oral bakteriler çeşitli mekanizmalar ve farklı yollarla oral dokulardan kan dolaşımına girebilir. İlk ve en yaygın yol, periodontal sondalama, diş taşı temizliği, endodontik aletlerle over-enstrümantasyon ve diş çekimi gibi işlemlerin sebep olduğu doku travması sonucunda, dental plak ve oral biyofilme komşu bölgede bulunan kapiller damar ve kılcal damarların doku bütünlüğünün bozulması ve bakterilerin bu yolla sistemik dolaşıma karışmasıdır. Ağız içinde mikrobiyal oluşumun fazla olması ise bu yayılımı kolaylaştırmakta ve kötü ağız hijyenine sahip kişilerde ağız içi işlemler sırasında bakteremi gelişme riski daha yüksek olabilmektedir (Forner ve ark. 2006). İkinci olarak, periodontal biyofilmde geniş bir bakteri çeşitliliği olmasına rağmen deneysel bakteremilerde yalnızca belli başlı bakteri türlerinin izole edilebilmiş olması, bu geçişte bakterilerin bazı mikrobiyal faktörlerinin de rol oynadığını ortaya koymaktadır. Bakteremi durumunda kan dolaşımında sıkça bulunan türler, vasküler invazyon ile bağlantılı olabilecek virülens özelliklerine sahiptir. *Streptococcus spp.* 'un endotelyal adezyon (Hahn ve ark. 2005) ve *Porphyromonas gingivalis*' in interselüler matris degradasyonu (Andrian ve ark. 2004) özellikleri bakteremide önemli rol oynar. Odontojenik bakteremilerde sıklıkla izole edilen bakteri türlerinin kan dolaşımına geçişlerini ve hayatta kalmalarını kolaylaştıran virülans faktörleri Tablo 2-3'de gösterilmiştir.

**Tablo 2-3: Odontojenik bakteremilerde izole edilen bakteri türleri ve kan dolaşımına geçişlerini ve hayatta kalmalarını kolaylaştıran virülans faktörler (Parahitiyawa ve ark. 2009)**

<b>Mikroorganizma</b>	<b>Faktör ve özellikler</b>
<i>Streptococcus mutans</i>	Periferal kan monosit hücrelerini ICAM-1, ICAM-2, LFA-1 gibi adhezyon molekülleri salan dendritik hücrelere dönüştürerek hasarlı endotele ve kan pıhtılarındaki fibrinojene adhezyon sağlar.
<i>Abiotrophia defectiva</i>	İnsanda endokardit ile ilişkilendirilen türleri daha yüksek fibronektin bağlama kapasitesine sahiptir.
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Kemotaktik peptitlerin nötrofillere bağlanmasını inhibe eder.
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	EmaA (ekstraselüler matriks protein adhesin A) anten benzeri uzantılar oluşturarak kollajene adhezyonu kolaylaştırır.
<i>Streptococcus anginosus</i>	Endotele ve kollajene bağlanır.
<i>Streptococcus sanguinis</i>	Platelet aggregation-associated protein (PAAP); trombosit akümülyasyonunu kuvvetlendirir.
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Dış membran moleküllerinin porin-benzeri aktivitesi nötrofilleri depolarize eder ve polimorfohücreli lökosit cevabını immobilize eder.
<i>Viridans streptokoklar</i>	Salgılanan faktörler interlökin-8 üretimini artırır.

#### **2.3.4. Odontojenik Bakteremiye Tetikleyen Etkenler**

Sadece periodontal sondalama, diş taşı temizliği, kök yüzeyi düzleştirilmesi, diş çekimi gibi işlemler değil, diş fırçalama, diş ipi kullanımı ve çiğneme gibi fizyolojik aktiviteler bile oral biyofilm ve kan dolaşımı arasındaki hassas anatomik ve fonksiyonel bariyere zarar vererek odontojenik bakteremiye sebep olabilir. Periodontitis, gingivitis, kök kanal infeksiyonları veya uyumu iyi olmayan ağız içi apaylerin sebep olduğu travmalar ile ilişkili enflamasyon varlığının, özellikle de ağız boşluğunun mekanik manipülasyonlarını takiben, bakteremi riskinde artışa neden olacağı öngörülebilir.

### 2.3.4.1. Çiğneme Fonksiyonu

Normal fizyolojik çiğneme hareketi, bireysel varyasyonlara sahip olabileceği için deneysel bir ortamda objektif olarak kontrol edilmesi zor olan bir fonksiyondur. Çiğnemenin risk faktörlerine sahip bireylerde bakteremiye sebep olabileceği teorisinin varlığına rağmen, literatürde mevcut olan çalışmalarda kesin bir sonuca varılması için bulguların henüz yeter olduğu görülmektedir. Odontojenik bakteremiye ilişkin en eski çalışmalardan birinde, sert şeker çiğneyen kişilerin% 17'sinde bakteremi gelişmişken, yumuşak çiğneme sonrası hiçbir bireyde bakteremi tespit edilememiştir (Cobe 1954). Daha yakın zamanda yapılmış bir diğer çalışmada da benzer sonuçlar bulunmuştur; periodontitis bulguları olan hastaların % 20'sinde çiğneme sonrası bakteremi tespit edilirken, periodontal bakımdan sağlıklı olanlarda ve gingivitis bulunan hastalarda (örneğin diş etlerinde yüzeysel enflamasyon olan, ancak derin periodontal dokularda diş eti iltihabı görülmeyen hastalar) çiğneme sonrası bakteremi tespit edilmemiştir (Forner ve ark. 2006). Murphy ve ark. ise gerçekleştirdikleri kontrollü çalışmada, periodontal sağlık durumuna bakılmaksızın farklı zaman aralıklarında kan dolaşımına tespit edilebilir sayıda bakteri geçişine ilişkin bir bulgunun saptanmadığını belirtmişlerdir (Murphy ve ark. 2006). Geerts ve ark., kronik periodontitisli hastalarda limunus amoebocyte lysate testi ile kanda yüksek bakteriyel endotoksin düzeylerinin ölçüldüğünü; bu bulgunun odontojenik bakteremin bir sonucu mu yoksa enflamasyonlu periodontal dokulardan kaynaklanan endotoksemi mi olduğunun bilinmediğini belirtmişlerdir (Geerts ve ark. 2002).

### 2.3.4.2. Kişisel Ağız Bakımı İşlemleri

Diş fırçalama, diş ipi ve kürdan kullanımı gibi kişisel rutin ağız bakım işlemlerinin bakteremi gelişimine olan etkisinin değerlendirilmesi de oldukça zordur. Forner ve ark. 60 kişide gerçekleştirdikleri kontrollü klinik çalışmada diş fırçalama sonrası hiçbir hastada pozitif kan kültürü tespit edilmediğini, diş fırçalamanın sağlıklı kişilerde veya gingivitisli bireylerde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bakteremi oluşturmadığını; bu konuda daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmakla birlikte eldeki verilerin hafif gingivitisin oral manipülasyon sırasında bakteremilere neden olmadığını gösterdiğini bildirmişlerdir (Forner ve ark. 2006). Ayrıca sağlıklı askerlerde gerçekleştirilen başka bir çalışmada, yumuşak kıllı diş fırçaları ile fırçalandıktan sonra

bakteremi insidansının sıfır olduğu gözlenmiş; analiz edilen 180 aerobik ve anaerobik kültürden sadece üçü, saptanabilir bir üreme sağlamış ve bunlar da kan kültürlerinde iyi bilinen bir deri kontaminantı olan *Propionibacterium acnes* olarak tanımlanmıştır (Hartzell ve ark. 2005).

Ortodontik aparey kullanan hastalarda diş fırçalamayı takiben %25 oranında odontojenik kökenli bakteremi tespit edildiği bildirilmiştir (Schlein ve ark. 1991). Ayrıca, konvansiyonel diş fırçalarına göre elektrikli sonik diş fırçaları kullanıldığında bu oranın daha yüksek olabileceği de belirtilmiştir (Bhanji ve ark. 2002).

Diş ipi kullanımının, dental plak biofilmlerini mekanik olarak bozan bir prosedür olarak odontojenik bakteremi ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Crasta ve ark. 30'u kronik periodontitisli, 30'u periodontal olarak sağlıklı hastada gerçekleştirdikleri çalışmada, diş ipi kullanımı sonrası 30. saniyede periodontitisli grupra %40, sağlıklı grupta ise %41 oranında geçici bakteremi saptandığını bildirmişlerdir (Crasta ve ark. 2009).

#### **2.3.4.3. Periodontal İşlemler**

Periodontal sondalama (Daly ve ark. 1997; 2001), diş taşı temizliği (Kinane ve ark. 2005; Cherry ve ark. 2007), kök yüzeyi düzleştirilmesi ve periodontal cep irrigasyonu (Waki ve ark. 1990; Lofthus ve ark. 1991; Allison ve ark. 1993) çeşitli derecelerde bakteremi ile ilişkilendirilmiştir. Periodontitisli hastalarda periodontal işlemler sonrası bakteremi insidansının sağlıklı ve gingivitisli bireylere oranla yüksek olduğu düşünülürse periodontitise bağlı enflamasyon varlığı bakteriyel geçiş için önemli bir faktör olarak değerlendirilebileceği; bakteremi insidansının ise gingivitisli hastalarda % 5-20, periodontitisli hastalarda % 5-75 arasında değiştiği bildirilmiştir (Daly ve ark. 1997; Forner ve ark. 2006).

#### **2.3.4.4. Diş Çekimi**

Diş çekimi ve buna bağlı doku travması bakteremiye neden olur ve bugüne kadar odontojenik bakteremi ile ilişkili olarak üzerinde en sık çalışma yapılan ağız içi cerrahi prosedürdür. Baktereminin, küçük çapta bir cerrahi müdahaleyi gerektiren gömük diş çekimlerinin yanı sıra basit diş çekimi işlemlerini takiben de gelişebileceği

bilinmektedir (Roberts ve ark. 1998; Lockhart ve ark. 2004; Rajasuo ve ark. 2004; Roberts ve ark. 2006; Tomas ve ark. 2007). Diş çekimi sonrası meydana gelen bakteremi insidansının gingivitis, periodontitis ve dentoalveoler apseler gibi bakteriyel biyofilm yükünü arttıran odontojenik infeksiyonlarla pozitif yönde bir ilişkisi olduğu bildirilmiştir (Brennan ve ark. 2007; Coulter ve ark. 1990; Takai ve ark. 2005; Tomas ve ark. 2007). Diş çekimi sonrası bakteremi insidansını etkileyen diğer faktörler de cerrahi işlemin kapsamı, süresi ve kan kaybının miktarıdır (Okabe ve ark. 1995). Diş çekiminde, özellikle de gömük üçüncü azı dişlerin cerrahi insizyonlarında, bireylerin yaklaşık %10'unda bakteremi tespit edilmiş ve bu insidansın preoperatif antiseptik gargara kullanımı ile azalmadığı belirtilmiştir (Brown ve ark. 1998).

Entübasyonun bakteremi ile ilişkili olabileceği belirtilmesine rağmen (Oncag ve ark. 2005), Takai ve ark. ise genel anestezi altında yapılan diş çekimleri sonrası bakteremi insidansında anlamlı bir değişiklik gözlenmediğini belirtmişlerdir (Takai ve ark. 2005). Bu bulgulara ek olarak, çekilen diş sayısının artması ve muko-periosteal elevatör kullanımının da bakteremi insidansında belirgin bir fark oluşturmadığı bildirilmiştir (Rajasuo ve ark. 2004; Rautemaa ve ark. 2007) .

#### **2.3.4.5. Ortodontik İşlemler**

Sabit ortodontik apareylerin ve yer tutucuların yerleştirilmesi ve simantasyonu ağız dokularının, özellikle de dişlerin ve diş etlerinin manipüle edilmesini gerektirir ve bu durum sistemik bakteriyel yayılıma neden olabilir. Bununla birlikte bugüne kadar elde edilen bulgular, önemli bir baktereminin yalnızca dişleri mekanik olarak iterek hafifçe aralamak için kullanılan separatörlerin yerleştirilmesi ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Lucas ve ark. 2002). Aljinat ölçü alımı, bantlama, braket sökümü, sabit apareylerin çıkarılması ve gömük dişlerin sürdürülmesinde kullanılan altın zincirlerin aktivasyonu gibi diğer ortodontik işlemlerin önemli bir bakteremiye sebep olmadığı belirlenmiştir (Erverdi ve ark. 2000; 2001; Lucas ve ark. 2002; Rosa ve ark. 2005).

#### **2.3.4.6. Endodontik İşlemler**

Endodontik kanal eğeleri ile tek veya çok köklü dişlerin kök kanallarının enstrümantasyonunu içeren endodontik işlemler, bakterileri periapikal dokulardan dışarı

iterek kan dolaşımına karışmalarına sebep olabilir. Bu gibi durumlarda baktereminin oluşmasında önemli bir faktör, enstrümantasyonun sebep olduğu doku travmasının boyutudur. Bu nedenle kanal aletlerinin kök kanallarından apikale taşıdığı durumlarda bakteremi insidansının, atravmatik endodontik işlemlere oranla yüksek olduğu bildirilmektedir (Debelian ve ark. 1998; Bender ve ark. 2003).

#### 2.3.4.7. Çeşitli Ağız İçi İşlemler

Diş çekimi, periodontal ve endodontik işlemler gibi diş hekimliği prosedürlerinin yanı sıra, diş beyazlatma ve polisaj gibi estetik işlemler de yaygın olarak uygulanmaktadır. Bu işlemler dişeti epitelinde abrazyon ve travmaya sebep olabilmekle birlikte, odontojenik bakteremiye sebep olmadıkları belirtilmiştir (Hunter ve ark. 1989).

Genel anestezi altında diş tedavileri yapılan çocuklarda diş fırçalama, polisaj lastiği ile diş yüzeyi temizliği ve diş taşı temizliği işlemleri uygulanarak bu prosedürler sonrası bakteremi gelişimi incelenmiş, her 3 grupta da pozitif kan kültürü oranı ve bakteremi yoğunluğu açısından anlamlı bir fark bulunmadığı bildirilmiştir (Lucas ve Roberts, 2000). Genel anestezi altında tedavileri yapılan 735 çocuğun dahil edildiği bir araştırmada polisaj işleminin hastaların %24,5'inde, intraligamenter anestezinin %96,6'sında, rubber-dam yerleştirilmesinin %29,4'ünde, matriks bandı ve kama yerleştirilmesinin %32,1'inde, sadece dişlerin fırçalanmasının ise %38,5'inde bakteremiye yol açtığı belirtilmiştir (Roberts ve ark. 1997).

Siyalografi, majör tükürük bezlerinin görüntülenmesinde yaygın olarak uygulanan bir prosedür olup, radyo opak boyaların tükürük bezlerinin duktal sistemine enjekte edilmesini gerektirir. Bu prosedürün farklı aşamalarında Streptokok kökenli bakteremi gözlemlendiği bildirilmiştir (Lamey ve ark. 1985).

Dentoalveoler apselerin özellikle periapikal bölgede enflamasyona ve vaskülarizasyonda artışa sebep olduğu bilinmektedir. Bu tür lezyonların pürülan içeriğinin basit insizyonlarla boşaltılmasını takiben bakteremi oluşabileceği bildirilmiştir. Bununla birlikte, insizyon öncesi ithihabın iğne ile aspirasyonunun ve apsenin drenajının, muhtemelen dokudaki basıncın azalması sebebiyle, bakteri yayılımını azaltabileceği, hatta ortadan kaldıracabileceği öne sürülmüştür (Flood ve ark. 1990).

Tüm dental işlemler göz önüne alındığında, odontojenik bakteremide etkili iki ana faktör öne çıktığı; birinci ve en önemli olarak periodontitiste görüldüğü gibi, biyofilmin mikrobiyal yüküyle doğrudan ilişkili olan enflamasyon derecesi, ikinci olarak ise dokuda meydana gelen travma miktarı olduğu belirtilmiştir (Darveau ve ark. 1997; Armitage 1999).

### **2.3.5. Geçici Odontojenik Bakteremi**

Odontojenik kaynaklı bakteremin sağlıklı bireylerde çoğunlukla geçici bir durum olduğu kabul edilmektedir. Ayrıca, sağlıklı bireylerde bakterilerin doğal ve adaptif bağışıklı sistemi mekanizmaları ile hızlı bir şekilde kan dolaşımından temizlendiği bilinmektedir (Petrunov ve ark. 2006). Bu genel kaniye rağmen, bazı çalışmalar, odontojenik bakteremi ataklarının 60 dakikaya kadar sürebildiğini ortaya koymuştur (Diz Dios ve ark. 2006; Roberts ve ark. 2006; Tomas ve ark. 2007). Ayrıca, tespit yöntemlerinin hassasiyetine bağlı olarak, kan dolaşımındaki bakteriyel yükteki azalmanın 30. saniyede %10-90, 60. dakikada ise %2-20 arasında değişebildiği bildirilmiştir. Bununla birlikte, başlangıçtaki ani düşüşe rağmen, sistemik dolaşımdaki odontojenik kökenli birkaç bakterinin hayatta kaldığı; bu persistan bakterilerin rolü ve konak savunması karşısında nasıl hayatta kalabildikleri konusunda daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu belirtilmektedir. Çalışmalarda ilk konak savunmasından kaçabilen bu bakterilerin hedef organlara yerleşerek sistemik ve uzak bölgelerde infeksiyon meydana getirenler olmasının muhtemel olduğu vurgulanmaktadır (del Pozo ve Patel 2007). Kronik periodontitis ve gingivitis gibi ağız boşluğundaki fokal infeksiyonlar ile kalp hastalığı, diyabet, gebelik komplikasyonları ve felç gibi sistemik durumlar arasındaki ilişkinin önem kazandığı bilinmektedir (Rautemaa ve ark. 2007).

### **2.3.6. Oral Patojenlerin Sebep Olduğu Sistemik veya Uzak Doku İnfeksiyonları**

#### **2.3.6.1. Kalp Kapakları ve İnfektif Endokardit**

Oral patojenlerin kan dolaşımına karışarak koroner endoteliuma invaze olabildikleri bildirilmiş; bu bakteriler kalp kapaklarında, ateromatöz plakta ve koroner arter plakta tespit edilmiştir (Han ve Wang 2013). Viridans streptokoklardan *S. oralis*, *S. sanguinis*, *S. intermedius*, *S. milleri*, *S. mutans* ve *S. salivarius* özellikle önem

taşımaktadır. Daha az görülen diğer türler arasında *F. nucleatum*, *F. polymorphum* ve *A. actinomycetemcomitans* sayılabilir (Lockhart ve Durack 1999). HACEK grubu mikroorganizmaların ise (*Haemophilus sp.*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* ve *Kingella kingae*) duyarlı konaklarda endokardite sebep olduğu bilinmektedir (Goldberg ve Katz 2006).

Enfektif endokarditin patofizyolojisi üç kritik unsur içerir; bunlar kalp kapağının bakterilerin yapışması için uygun hale gelmesi, dolaşımdaki bakterilerin hazırlanmış kalp kapağı yüzeyine yapışması ve yapışmış bakterilerin kapak yüzeyinde hayatta kalması olarak tanımlanır. Dolaşımdaki bakterilerin sağlıklı endotele yapışmadığı, ancak konjenital kalp rahatsızlıklarından kaynaklanan kan akımı düzensizliklerinin kalbin endotel dokusunda hasar yarattığı ve hasarlı bölgede biriken trombosit ve fibrin doku hücrelerinin bu bölgede non-bakteriyel trombotik endokardit (NBTE) oluşumuna sebep olduğu belirtilmiştir. Kan dolaşımına karışan oral patojenlerin üzerlerinde bulunan adezin proteinleri vasıtasıyla NBTE'ye tutunarak proliferasyon yaptıkları ve bunun sonucunda enfektif endokardit tablosunun geliştiği bildirilmiştir (Knirsch ve Nadal 2011; Bozdoğan ve ark. 2016; Bauer ve ark. 2016).

### 2.3.6.2. Merkezi Sinir Sistemi İnfeksiyonları

Kan dolaşımındaki bakterilerin kan beyin bariyerini aşarak merkezi sinir sistemine girebilmekte; ayrıca ağız içi bakteriler anatomik yakınlık nedeniyle, beyine veya omuriliğin üst kısmına doğrudan geçiş yapabilmektedir. Beyin ve omurilikteki piyojenik infeksiyonlara ilişkin yapılan çalışmada *Fusobacterium nucleatum*, *Veillonella*, *Streptococcus anginosus*, *S. oralis* ve *Actinomyces meyeri* gibi oral patojenlere rastlandığı; çoğu olguda ise periodontitis, gingivitis, diş çürüğü veya periapikal osteit gibi bir veya daha fazla ağız içi patoloji varlığı saptandığı bildirilmiştir (Ewald ve ark.2006). Araştırmacılar olguların çoğunluğunda herhangi bir başka enfektif odak bulunmaması sebebiyle infeksiyonun birincil kaynağının ağız boşluğu olduğu sonucuna varmışlardır (Michelow ve ark. 2000; Rousee ve ark. 2002; Heckmann ve ark. 2003; Iida ve ark. 2004; Marques da Silva ve ark. 2004; Kazancı ve ark. 2005; Stepanovic ve ark. 2005; Khouzam ve ark. 2006; Wagner ve ark. 2006). Birkaç çalışmada merkezi sinir sisteminden ve ağız boşluğundan izole edilen bakterilerin



fenotipik veya genotipik homojenliği de tespit edilmiştir (Marques da Silva ve ark. 2004; Wagner ve ark. 2006).

### 2.3.6.3. İskelet Sistemi İnfeksiyonları

İskelet sisteminde odontojenik kaynaklı infeksiyonlara daha nadir rastlanmakla birlikte, çok sayıda spondilodiskit ve sakroileit, protez kalça eklemi infeksiyonları, akut osteomyelit ve paraspinal apse olgusunda ağız bakterilerinin rol oynadığı bildirilmiştir. Periodontitis gibi kronik ağız infeksiyonlarının varlığının yanı sıra, diş çekimi ve diş taşı temizliği gibi invaziv oral prosedürler de bu infeksiyonların potansiyel tetikleyici faktörleri olarak ortaya çıkmaktadır. *Abiotrophia defectiva*, *Streptococcus intermedius*, viridans grubu streptokoklar, *Haemophilus aphrophilus* ve *Haemophilus paraphrophilus* gibi oral bakteri türlerinin bu tür infeksiyonlarda izole edildiği bildirilmiştir (Lindqvist ve Slatis 1985; Samuel ve ark. 1997; Dewire ve ark. 1999; Kaar ve ark. 2000; Wilhelm ve ark. 2005).

### 2.3.6.4. Solunum Sistemi İnfeksiyonları

Literatürde odontojenik bakteremi sonucunda gelişen pulmoner infeksiyonlar bildirilmiştir, ancak bu konu tartışmalara yol açmaktadır, çünkü bakterilerin doğrudan anatomik yollarla akciğerlere translokasyon yapabileceği bilinmektedir. Bununla birlikte, her iki akciğerin de tutulumu ve lezyonların çokluğu oral-hematojen yayılım teorisini desteklemektedir. *Streptococcus intermedius* ve *Actinomyces odontolyticus* akut solunum sıkıntısı sendromu, post-pnömonektomi infeksiyonu, septik pulmoner emboli ve akciğer apseleriyle ilişkilendirilmiştir. Ayrıca bu pulmoner infeksiyonların gözlendiği olan hemen hemen tüm olgularda ileri malignitelere bağlı olarak bağışıklık sisteminin bozulmuş olması da dikkat çekmektedir (Christensen ve ark. 1993; Dietl ve Mehran 2004; Tarannum ve Faizuddin 2007).

### 2.3.6.5. Septisemi

Benzer şekilde, odontojenik baktereminin, özellikle hematolojik maligniteleri olan hastalarda septisemiye sebep olduğunu pek çok araştırmada bildirilmiştir (Patel ve

ark. 1999; Kennedy ve ark. 2000; Vidal ve ark. 2000; Tee ve ark. 2001; Detry ve ark. 2006).

### **2.3.6.6. Gebelik Komplikasyonları**

Erken doğum ve erken membran rüptürü gibi gebelik komplikasyonlarının kötü ağız hijyeni, özellikle de kronik periodontitis ile ilişkilendirildiği pek çok çalışma vardır (Lopez ve ark. 2002; 2005; Boggess 2005; Klebanoff ve Searle 2006; Tarannum ve Faizuddin 2007). Ayrıca periodontal patojen bakteriler, preeklampitik kadınların plasentalarında da tespit edilmiştir (Barak ve ark. 2007). Sifiliz etkeni olan *Treponema pallidum*'un fetoplental bariyeri geçtiği ve neonatal sifiliz ve ilişkili dental anormallilere (Mulberry molarları, Hutchinson dişleri) sebep olduğu göz önüne alındığında *T. denticola* ve benzeri oral bakterilerin fetoplental geçiş yoluyla fetüsü etkileyebileceği düşünülebilir. İmmünojik çalışmalarda, erken doğmuş bebeklerin göbek kordonu kanında periodontopatojen spesifik IgM düzeyleri de daha yüksek seviyede bulunmuştur (Boggess 2005). Bunun, fetoplental bakteriyel geçişi sonucu mu, yoksa genel bir bağışıklık yanıtı mı olduğu henüz bilinmemektedir. Bu nedenle, odontojenik bakteremi ile fetüs ve anne sağlığı arasında bir bağlantı kurmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

### **2.3.6.7. Diğer Sistemik Hastalıklar**

Oral bakteriler ile ilişkilendirilen bazı sistemik hastalıkların da tanımlandığı görülmektedir. Romatoid artrit, tip 2 diabet, obezite, akut apandisit, Alzheimer, baş-boyun kanserleri, oral skuamöz hücreli kanser, kolorektal kanser, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, Crohn hastalığı, Behçet hastalığı, kronik ürtiker, üveit, idiyopatik trigeminal nevralji olgularında oral patojenlerin rol oynayabildiği öne sürülmektedir (Li ve ark. 2000; Amar ve ark. 2011; Castellarin ve ark. 2012; Kostic ve ark. 2012; Tezal ve ark. 2013; Zhong ve ark. 2014; Borgnakke ve ark. 2015; Shoemark ve Allen 2015; Mukherjee ve ark. 2017 ).

## 2.4. Konjenital Kalp Hastalıkları

### 2.4.1. Konjenital Kalp Hastalıkları ve Görülme Sıklıkları

İnsan kalbi gestasyonel dönemin sekizinci ve onikinci haftaları arasında gelişmekte ve bu süreçte oluşan bir bozukluk sonucu oluşan anomali konjenital kalp hastalıklarına (CHD) neden olabilmektedir. Konjenital kalp hastalıklarının çocuklarda en sık rastlanan doğum defekti tipi olup, kalbi etkileyen pek çok farklı sorunu tanımlayabildiği ve tüm canlı doğumlarda %0,5-0,8 oranında, prematüre doğumlarda % 2 oranında, ölü doğumlarda %3-4, abortuslarda ise %10-25 oranında görüldüğü bildirilmektedir (Marelli ve ark. 2014; Egbe ve ark. 2015). Konjenital kalp hastalıkları tek başına görülebildiği gibi bazı vakalarda mevcut sendromun ya da genetik malformasyonun (Down Sendromu, Noonan Sendromu, Turner Sendromu, tetrazomi 22p (cat-eye sendromu) , DiGeorge Sendromu, Ellis-Van Creveld s-Sendromu, Marfan Sendromu, trizomi 13 ve trizomi 18) bir parçası da olabildiği; en sık rastlanan kardiyolojik defektin 10000 canlı doğumda 15,5 sıklıkla görülen ventriküler septal defekt (VSD) olduğu belirtilmektedir. Büyük arter transpozisyonu (BAT), aort stenozu ve triküspit atrezisi (TA), erkeklerde sık görülürken, Down sendromlu çocuklarda görülen atriyoventiküler kanal defektlerinin ise kızlarda daha sık gözlemlendiği bildirilmektedir (Bozdoğan ve ark, 2013; Roberts ve ark. 2013; Lee ve ark. 2014; Espinola-Zavaleta ve ark. 2015; Mlynarski ve ark. 2015; Calcagni ve ark. 2017).

Konjenital kalp hastalıklarının esas etkeni bilinmemekle birlikte, gebelikte ilk üç ayda kızamıkçık başta olmak üzere geçirilen çeşitli viral hastalıklar, radyasyon, hipoksi, çeşitli ilaçlar, alkol, sigara ve kokain kullanımı, bazı vitamin eksiklikleri ve fazlalıkları etiyolojide rol oynayan faktörler olarak tanımlanmaktadır. Annedeki fenilketonüri, romatoid artrit ve sistemik lupus eritematozus gibi kollajen vasküler hastalıklar, koagülopati ve sferositoz gibi hematolojik bozukluklar çocuklar için konjenital kalp defekt riskini yükselten diğer hastalıklardır. Maternal diyabet özellikle çift çıkışlı sağ ventrikül, trunkus arteriyozis, fallot tetralojisi gibi konotrunkal defektlerin riskini arttırmaktadır. Akne tedavisinde kullanılan retinoik asit ise yine konotrunkal kanal defektleriyle ilişkilendirilmiştir. Lityum kullanımına bağlı olarak ise Ebstein anomalisi, triküspit atrezisi (TA) ve atriyal septal defekt (ASD) sık görülür. Konjenital kalp hastalıklarında ailesel yatkınlık da söz konusudur. Bu özellikle hipoplastik sol kalp sendromu ve aort koarktasyonunda belirgindir (Allen ve ark. 2013, Varal ve ark. 2015).

Konjenital kalp hastalığı, asiyanotik ve siyanotik olmak üzere iki ana grupta incelenebilir (Tablo 2-4). Asiyanotik konjenital kalp hastalıkları, sistemik arteriyel doygunluğun normal olduğu durumlardır. Siyanotik konjenital kalp hastalıklarında sistemik venöz kanın, henüz akciğerlerde oksijenlenmeden direkt olarak sistemik arteriyel dolaşıma karışması sonucu oluşan sağ- sol şant mevcuttur. Sağ-sol şantın neden olduğu sistemik arteriyel desatürasyonun klinik sonucu siyanozdur. Fallot Tetralojisi dışındaki siyanotik konjenital kalp hastalıklı çocukların, müdahale edilmezse nadiren bir yaşını geçebildiği belirtilmektedir (Bernstein 2004; Tanman ve ark. 2002).

**Tablo 2-4: Konjenital kalp hastalıklarının gruplandırılması**

<b>Siyanotik konjenital kalp hastalıkları</b>	<b>Yenidoğan (neonatal)</b> -Büyük arterlerin transpozisyonu -Trikuspid atrezisi -Obstrüksiyonlu total pulmoner anormal venöz dönüş -Ağır pulmoner stenoz -Pulmoner atrezi -Ciddi Ebstein ile ASD -Hipoplastik sol kalp	<b>Süt çocuğu (infant) ve daha ilerisi</b> -Büyük arterlerin transpozisyonu -Fallot tetralojisi
<b>Asiyanotik konjenital kalp hastalıkları</b>	-Konjenital aort darlığı -Koarktasyon+VSD/PDA	-Ventriküler Septal Defekt (VSD) -Atriyal Septal Defekt (ASD) -Patent Duktus Arteriozus (PDA) -Konjenital aort darlığı -Aort koarktasyonu -Pulmoner darlık -Parsiyel anormal pulmoner venöz dönüş+ASD

#### 2.4.2. Konjenital Kalp Hastası Çocuklarda Ağız Diş Sağlığı

Konjenital kalp rahatsızlığı olan çocuklarda kötü ağız hijyeni ve diş çürükleri sağlıklı çocuklara oranla daha sık gözlenebilmektedir. Bu çocuklarda görülebilen kronik kusmalar, hastalıkları nedeniyle şeker oranı yüksek ilaçların sık kullanımı, ailelerin kalp hastalığının ciddiyeti sebebiyle ağız-diş sağlığını ikinci plana atmaları, sık ve uzun süreli hastane yatışları sebebiyle ağız bakımının ihmal edilmesinin sebep olabileceği kötü ağız hijyeninin yanı sıra, konjenital kalp hastası çocuklarda sürme gecikmeleri, diş eksiklikleri ve mine hipoplazileri de görülebilmektedir (Hallet ve ark. 1992; Stecksén-Blick ve ark. 2004; Fallahinejad ve ark. 2013; Bozdogan ve Aktoren 2009).

Stecksén-Blicks ve arkadaşları konjenital kalp hastalığı bulunan çocuklarda çürük görülme sıklığının sağlıklı çocuklardan yüksek olduğunu ayrıca kalp hastası çocuklarda ağız içinde çürük varlığının, kalp atımını yavaşlatarak kalp kasılma gücünü arttıran bir ilaç olan digoksin kullanımı ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Stecksén-Blick ve ark. 2004).

Konjenital kalp hastası çocukların süt dişleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelendiğinde mine prizmalarının düzensiz dizilimi, dentin tübüllerinde genişleme, peritübüler dentinde incelleme, intertübüler dentinde düzensizlikler, mine ve dentinin Ca ve P içeriğinde azalmayı içeren bir dizi çürük riskini arttıran yapısal değişiklik saptanmıştır. Bu değişikliklerin kalp hastalığına bağlı faktörler olan hemodükanik bozukluklar, malnütrisyon, infektif endokardit, kullanılan ilaçlar ve hipoksiyle ilişkili olabileceği bildirilmiştir (El-Hawary ve ark. 2014).

Kalp ve kalp-akciğer nakli yapılmış konjenital kalp hastası çocuklar ile sağlıklı kontrol grubunun ağız-diş sağlığı açısından karşılaştırıldığı bir çalışmada çürük varlığı, plak indeksi ve gingivitis açısından iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmazken, nakil yapılmış grupta daha yüksek oranda mine defekti ve dişeti hiperplazisi varlığı saptanmıştır. Nakil sonrası kullanılan immünsupresif ilaçların dişeti hiperplazisine neden olarak hastalarda periodontal hastalıklara eğilimi arttırabileceği bildirilmiştir (Al-Sarheed ve ark. 2000).

#### 2.4.3. İnfektif Endokardit ve Antibiyotik Profilaksisi

Bazı kardiyak patolojiler, infektif endokarditin yol açabileceği yan etkiler açısından yüksek risk oluşturur ve bu rahatsızlıklara sahip bireylere bazı dental prosedürler öncesi antibiyotik profilaksisi uygulanması zorunludur. Amerikan

Kardiyoloji Koleji/Amerikan Kalp Birliği (ACC/AHA) 2008 yılında infektif endokardit profilaksisine yönelik önerilerini güncellemiştir (Tablo 2-5). Kurul, profilaktik tedavi yüzde yüz etkili olsa bile, diş hekimliği prosedürleri için antibiyotik profilaksisi ile infektif endokardit vakalarının sadece çok az bir kısmının engellenebileceği sonucuna varmış ve güncellenmiş rehberde önceki önerilere kıyasla, bazı dental prosedürlerinden önce antibiyotik profilaksisi uygulanması önerilen hasta popülasyonu nispeten kısıtlanmıştır (ACC/AHA 2008). Bu revizyonların gerekçeleri řu şekilde belirtilmiştir:

- Günlük aktivitelerle ilişkili sık sık meydana gelen bakteremiler sonucu infektif endokardit oluşma riski, dental, genitoüriner veya gastrointestinal prosedürlerin neden olduğu bakteremilere bağlı olarak oluşma riskinden daha yüksektir.

- Profilaksi ile dental, genitoüriner veya gastrointestinal prosedürlere maruz kalan bireyler arasında çok az sayıda infektif endokardit vakası önlenabilir.

- Antibiyotikle ilişkili olumsuz yan etkilerin oluşturacağı risk, profilaktik antibiyotik tedavisinden elde edilecek faydadan daha fazladır.

- Optimal ağızdan sağlığın ve ağız bakımı günlük aktiviteler sonucu oluşan bakteremi insidansını büyük ölçüde düşürebilir ve infektif endokardit riskini azaltmak için profilaktik antibiyotiklerden daha önemlidir (Bonow ve ark. 2008; Habib ve ark, 2009).

**Tablo 2-5: Dental prosedürlerde profilaksi gerektiren kardiyak durumlar (ACC/AHA 2008).**

---

-Kateter aracılığıyla yerleştirilmiş protezler ve homogreftler dahil prostetik kalp kapağı
-Anüloplasti halkası gibi prostetik materyallerle yapılmış kalp kapağı onarımı
-Geçirilmiş infektif endokardit öyküsü
-Kardiyak valvulopati gelişen kardiyak transplantasyon olguları*
-Palyatif şant ve kanalları da içeren onarılmamış siyanotik konjenital kalp hastalıkları**
-Protetik yama veya protetik aygıtların bölgesinde veya komşuluğundaki rezidüel defektli onarılmış konjenital kalp hastalıkları**

---

\* Sınırlı verilere göre, infektif endokardit, kalp nakli yapılan hastalarda genel popülasyondan daha sık görülmektedir; infektif endokardit riski, endotel hasarı, yüksek yoğunluklu immüsupresif terapi, sık santral venöz kateter erişimi ve sık endomiyokardiyal biyopsi nedeniyle nakilden sonraki ilk 6 ayda en yüksek seviyededir.

\*\*Yukarıda bahsedilen durumların haricinde konjenital kalp defektlerinin hiçbir formunda profilaksi artık önerilmemektedir.

---

## 2.5. Mikroorganizmaların Tanımlanması

### 2.5.1. Kültüre Dayalı Tanı Yöntemleri

Baktereminin teşhisi için geleneksel “altın standart “ olarak kabul edilen kültür yöntemi, mikroorganizmaların üremesi için gerekli uygun ortamların sağlanması ve logaritmik üreme dönemlerini tamamlamasıyla gerçekleşmektedir (D'Ercole ve ark. 2008; Hasçelik 2013).

Üreyen organizmalar, koloni morfolojisi, Gram boyama, motilite, kapsül veya fimbria varlığı gibi özelliklerinden yararlanılarak tanımlanır. Kesin tanımlama çoğunlukla karbonhidratları fermente edebilme veya diğer makromolekülleri parçalama kabiliyeti gibi fenotipik özelliklere dayandırılarak yapılır. Mikroorganizmaların hızlı tespitine izin vermek için bu testlerin birçoğu artık test panelleri şeklinde kitler olarak bulunmaktadır, örneğin API ve RapidID (bioMerieux, Fransa).

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında BACTEC gibi otomatik kan kültürü sistemleri de artık düzenli olarak kullanılmaktadır (Cetin ve ark. 2007). Bu otomatik sistem, yuvarlak tabanlı bir tüpün altında silikona gömülmüş bir floresan bileşik içerir. Floresan bileşik, broth'ta çözünen oksijenin varlığına duyarlıdır. Hızlı bir şekilde çoğalan ve solunum yapan mikroorganizmaların oksijeni tüketmesi bileşimin floresan ışık vermesine neden olur, bu şekilde bakteri üremesinin hızlı bir şekilde tanımlanmasını sağlar. Bakteriyel üreme tespit edildiğinde, alikotlar mikroorganizmaların kesin tanısı için farklı agar ortamlarda alt kültüre alınır. Bu otomatik yöntemler oldukça hızlıdır, ancak baktereminin kantifikasyonunun belirlenmesi zordur ve bu amaçla genellikle lizis filtrasyon yöntemi kullanılır.

Mikrobiyolojik teşhis için cerahat, mukoza lezyonlarından kazımlar, akıntılar, supra ve sub-gingival plak örnekleri kullanılabilir. Mikroorganizmaların kültürü antibiyotik duyarlılığının belirlenmesinde de çok önemlidir. Ancak, mikrobiyolojik kültür zaman alıcıdır ve bu klinik süresini olumsuz etkileyebilir. Bu sebepten, bakteri örneklerinde antibiyotik direnciyle ilişkili genlerin hızla tanımlanması için yeni moleküler teknikler geliştirilmiştir (Barken ve ark. 2007).

Ayrıca bu bilgilere ek olarak, birçok oral infeksiyonun polimikrobiyal nitelikte olduğu göz önüne alındığında, belirli bir odaktaki infeksiyona sebep olan tüm mikroorganizmaların bu yöntemle tanımlanamaması muhtemeldir. Oral infeksiyonlara

büyük oranda yavaş üreyen veya kültür edilemeyen bakteriler sebep olduğu için kültür yöntemi çoğu zaman yetersiz kalmaktadır.

### 2.5.2. Direkt Mikroskopi Yöntemi

Sitolojik veya mikrobial bir örneğin doğrudan mikroskopla incelenmesi, belirgin morfolojilere sahip bazı bakteri türlerinin tanımlanmasında kullanılabilir.

Örneğin sifilizin oral lezyonlarının teşhisinde, karanlık saha mikroskopisi ile spiral şekilli treponemalar tanımlanabilir. Bununla birlikte, mevcut olabilecek, *Treponema denticola*, *T. vincentii* ve *T. pectinovorum* gibi başka spiral biçimli organizmalar da (spiroketler) vardır ve bu yöntem hatalı pozitif sonuçlara sebep olabilir. Bununla birlikte, mikroskopi fluoresan kimyasal etiketli anti *T. pallidum* spesifik antikorlar ile kombine edildiğinde özgüllük artar (Hook ve ark. 1985).

### 2.5.3. İmmünolojik Testler

Herpes virüslerinin neden olduğu viral infeksiyonları tespit etmek için yaygın olarak kullanılmasına rağmen, antijen antikor reaksiyonlarına dayalı immünolojik tanı yöntemleri, oral bakteriyel infeksiyonlarının teşhisi için rutin olarak kullanılmaz. Literatürde tanımlanan testler çoğunlukla iskemik kalp hastalığı, diyabet ve romatoid artrit gibi patojenezleri ve muhtemel oral-sistemik hastalık etkileşimlerini belirlemeyi amaçlamaktadır. Bununla birlikte, *Porphyromonas gingivalis* ve *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* gibi periodontal patojenlerin çeşitli serotiplerine karşı antikor yanıtlarının ölçülmesiyle, periodontal hastalığın şiddetinin değerlendirilmesi için enzim bağlantılı bağışıklık testi (ELISA) 'nın kullanılmasında umut verici sonuçlar elde edilmiştir. Bu tür testlerin spesifik mikroorganizmaların tespitinde PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) kadar hassas ve spesifik oldukları ve kullanımlarının farklı alanlarda da yaygınlaşabileceği tartışılmaktadır (Rustemeyer ve ark. 2006)

### 2.5.4. Moleküler Teknikler

Enfeksiyöz hastalıkların etkeni olan mikroorganizmaları taksonomik seviyede teşhis etmek amacıyla kullanılan moleküler tekniklerin kullanımı giderek



yaygınlaşmaktadır. Mikroorganizmaya özgü genetik materyalin direkt tanısına olanak veren bu teknikler, kültür edilemeyen bakterilerin, *Mycobacterium tuberculosis* ve *Legionella pneumophila* gibi geç ve yavaş üreyen bakterilerin, *Francisella tularensis* ve *Brucella* gibi kültürü riskli bazı bakterilerin, canlı olmayan mikroorganizmaların tanısında ve kültürün doğrulanmasında kullanılabilir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), jel elektroforezi, DNA-DNA hibridizasyon, oligonükleotid DNA problemleri, 16S rDNA klonlama ve dizileme, tüm genomik DNA problemleri ve DNA mikroarray analiz gibi moleküler teknikler, oral mikrobiyomun tanımlanmasında da sıklıkla kullanılmaktadır (Çetinkaya ve Ayhan 2012).

Yüksek derecede korunmuş olması, bütün bakterilerde çok sayıda kopyasının bulunması, farklı bakteriler arasında önemli ölçüde dizi çeşitliliği ve 9 hiper değişken bölge içermesi (V1-V9) gibi özellikleri, yaklaşık 1500 baz uzunluğunda bir gen olan 16S rRNA geninin mikroorganizmaların moleküler yöntemlerle tanımlanmasında hedef gen bölgesi olarak tercih edilmesine neden olmaktadır (Clarridge 2004).

Nükleik asitlerin hibridasyonuna dayalı olan bu metotlar içinde en çok uygulanan teknik ise yüksek duyarlılığı ile hedef nükleik asitlerin çoğaltılmasını sağlayan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tekniğidir. İlk olarak 1983 yılında Dr. Kary Mullis tarafından geliştirilen PCR tekniği, temel olarak DNA üzerinde belirlenen hedef bölgenin o bölgeye özgü primerler ile çok sayıda kopyasının oluşturulduğu bir reaksiyondur. PCR ürünlerinin tespiti, jel elektroforezis tekniği ve floresans Ethidium Bromide boya ile boyanmış DNA'nın UV ışık altında görüntülenmesi ile yapılır. Floresan sinyali PCR ürün miktarıyla doğru orantılı olarak artmaktadır. Ayrıca bir sonraki adım olarak nükleotid dizileme teknolojinin uygulanmasına olanak sağlamaktadır. Böylelikle genom ile ilgili daha fazla ve daha güvenilir bilgi elde edilebilmektedir.

PCR devam ederken ortaya çıkan ürünlerin eş zamanlı olarak değerlendirmeye alınabildiği Gerçek Zamanlı PCR (Real Time PCR= qPCR) tekniği ile çok kısa sürede kalitatif ve kantitatif sonuç alınabilmektedir. qPCR'da ürünlerin analizi nükleik asit amplifikasyonu ile eş zamanlı olarak artış gösteren floresan sinyalinin ölçülmesiyle reaksiyon sırasında yapılmakta, bu nedenle agaroz jel elektroforezi, DNA bantlarının mor ötesi ışık altında görüntülenmesi gibi işlemlerin uygulanmasına gerek kalmamaktadır. Aynı cihaz içerisinde hem çoğaltma işleminin, hem de çoğaltılan ürünleri saptama işleminin yapılabilmesi, bu yöntemi çok daha hızlı ve pratik bir

yöntem haline getirmekte, ayrıca tüpler açılmadan test tamamlandığı için kontaminasyon riski de azalmaktadır. qPCR ürünlerinin kalitatif ve kantitatif analizlerinde, diziye özgün olmayan floresan boyalardan veya diziye özgün problemlerden yararlanılmaktadır (Mullis ve ark. 1986; Fraga ve ark. 2008).

### **2.5.5. Metagenomik Yaklaşım**

Metagenomik kelime anlamı olarak “genomun ötesinde” yi ifade etmektedir. Metagenomiğin temel tanımı, birden fazla mikroorganizma içeren çevresel örneklerden (toprak, su, insan vb) izole edilmiş genetik materyalin doğrudan analizini içerir ve bu yönüyle tek bir organizmadan veya hücreden elde edilen DNA'nın analizi olan “genomik”ten ayrılır. Metagenomik yaklaşım, birden fazla mikroorganizma içeren örneklerin izole edilmeden ve kültür edilmesine gerek duyulmaksızın direkt olarak doğal ortamlarından DNA'nın ekstrakt edilmesi ve sekanslama tekniği kullanılarak analiz edilmesini içeren yeni bir araştırma sahası olarak son yıllarda oldukça önem kazanmıştır. Bu terim ilk olarak 1998 yılında Jo Handelsman tarafından topraktaki bakterilerin araştırıldığı bir çalışmada kullanılmıştır (Handelsman ve ark. 1998).

Metagenomik çalışmalar çevresel tek-gen araştırmaları ve tüm genlerin rastgele shotgun çalışmaları olmak üzere iki temel araştırma alanı olarak sınıflandırılabilir. Çevresel tek-gen çalışması hedefe odaklanmış bir metagenomik çalışma olarak görülebilir. Belirlenmiş tek hedefler, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak amplifiye edilir ve daha sonra elde edilen ürünler bu genin ortolog veya paraloglarının analizi için sekanslanır. Shotgun metagenomik çalışma ise bir örnekteki toplam DNA'nın izole edilerek sekanslanmasıyla, örnekteki tüm genlerin profilinin oluşturulmasıdır (Gilbert ve Dupont 2010).

Metagenomik yaklaşım, deniz suyu, atık sular, maden yatakları, toprak örnekleri gibi çevresel alanlarda daha sık kullanılmakla birlikte, ağız boşluğu da dahil olmak üzere insan vücudundaki mikrobik toplulukları incelemek için de yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır (Clarridge 2004; Lazareviv ve ark. 2009; Üstek ve ark. 2011; Wang ve ark. 2013; Timby ve ark. 2017).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Anabilim Dalı Ağız Mikrobiyolojisi Bilim Dalı ve İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Kardiyolojisi Bilim Dalı'nda Aralık 2016 - Ocak 2018 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Çalışma için T.C. İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 10.02.2016 tarihli, 27 sayılı toplantının 81 sayılı kararı ile çalışmanın etik yönden bir sakınca taşımadığını, uygulamaya konulabileceğini belirten etik kurul onayı alındı.

Çalışmaya İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Pedodonti Anabilim Dalı ve İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Kardiyolojisi Bilim Dalı'na başvuran, konjental kalp hastalığı bulunan 5-15 yaş arası 20 çocuk ile sistemik rahatsızlığı bulunmayan 20 çocuk kontrol grubu olarak dahil edildi. Çocukların ebeveynlerine çalışma öncesi 'Gönüllü Olur Formu' imzalatıldı, formda çalışmanın yöntemi ve olası potansiyel riskler hakkında bilgi verildi ve çalışmaya katılıp katılmamaları kendi iradelerine bırakıldı, istedikleri takdirde çalışma kapsamından çıkabilecekleri bildirildi.

#### 3.1. GEREÇ

##### 3.1.1. Çalışmada Kullanılan Sarf Malzemeler

Steril tükürük kabı (100 ml)

Steril kan tüpü (Vacutainer®)

Ependorff tüp

LightCycler 480 Multiwell Plate 96, Roche

10ul micropipette tips, Interlab

200ul micropipette tips, Interlab

1000ul micropipette tips, Interlab

### 3.1.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

Derin Dondurucu -20<sup>0</sup> C, Bosch

Derin Dondurucu -80<sup>0</sup> C, Thermo

Güç Kaynağı, EDI

Hassas Terazı, AX200, Shimadzu

Isısal Döngü Cihazı, Mastercycler, Eppendorf

Kuru Blok Isıtıcı, Techne DB.2D

Laminar Flow, Heraeus

Otomatik Mikropipetler, Microlit

UV Kaynağı, Vilber Laurmat

UV Lambası, 13203, Microbiologie

Vorteks, Mix 20, Falc

LightCycler 480 Instrument II, Roche

NanoDrop™ 2000 Spektrofotometre Cihazı, Thermo Fisher Scientific

### 3.1.3. Çalışmada Kullanılan Kitler

DNA ekstraksiyon kiti, 50 preparat, QIAamp® DNA Blood Mini Kit, QUIAGEN, GmbH, Germany.

DNA ekstraksiyon kiti, 50 preparat, Saliva DNA Isolation Kit, Norgen Biotek, Canada.

GoTaq® qPCR MasterMix, Promega

### 3.1.4. Çalışmada Kullanılan Standart Bakteri Suşları

American Type Culture Collection (ATCC)'ye kayıtlı suşlardan;

- *Streptococcus mutans* ATCC 25175
- *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586
- *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277
- *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 29523
- *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (JP2 Klon) ATCC 700685

Leibniz Institut DSMZ - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen'e kayıtlı suşlardan;

- *Scardovia wiggisiae* DSM 22547

Dr. K. Nakano, Osaka Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı, Osaka, Japonya'da kayıtlı suşlardan;

- *Streptococcus mutans* serotype *k* LJ23

## 3.2. YÖNTEM

### 3.2.1. İndeks Ölçümleri

İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Pedodonti Anabilim Dalı ve İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Kardiyolojisi Bilim Dalı'na başvuran, konjenital kalp hastalığı bulunan 5-15 yaş arası 20 çocuk ile kontrol grubunu oluşturan ve sistemik rahatsızlığı bulunmayan 20 çocuk, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı Kliniği'nde diş hekimi koltuğunda, yeterli ışık altında, ayna ve sond kullanılarak muayene edildi. Hastaların indeks ölçümleri tek kişi tarafından gerçekleştirildi.

#### 3.2.1.1. Çürük İndeksi

Süt ve sürekli dişler için çürük, dolgulu ve çürük nedeniyle çekilmiş diş verileri Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO, 1987) belirlediği kriterlere uygun olarak alındı ve hesaplandı. Diş minesini, başlangıç lezyonlarını, dentini kapsayan tüm çürük lezyonları

indeks verilerine ve hesaplamalarına dahil edildi. Fizyolojik kök rezorpsiyonu nedeniyle düşen süt dişleri indeks verilerine dahil edilmedi. Çocukların isim-soyisim, yaş, cinsiyet, iletişim bilgileri ve indeks verileri bu çizelgelere kaydedildi.

Süt/sürekli dişler için çürük, dolgulu ve çürük nedeniyle çekilmiş diş sayısı dft/DMFT; diş yüzeyi dfs/DMFS olarak kodlandı. DMFT ve dft ölçümlerinde her çocuk için çürük, dolgulu sürekli dişler ve süt dişleri belirlenerek hasta çizelgesine kaydedildi ve bu dişlerin sayıları toplanarak bireye ait sayı indeksi elde edildi. DMFS ve dfs hesaplamasında her çocuk için çürük ve dolgulu sürekli ve süt dişlerinin mezial, fasiyal, distal, oral yüzeyleri belirlenerek çizelgesine kaydedildi; yüzey sayıları toplanarak bireye ait yüzey indeksi elde edildi.

### 3.2.1.2. Plak İndeksi

Kalp hastası ve kontrol grubu çocukların ağız hijyeni ve plak birikimi Green ve Vermillion Basitleştirilmiş Ağız Hijyen İndeksi (Green ve Vermillion 1964) (G&V OHI-S Plak İndeksi) kullanılarak değerlendirildi. 16 ve 26 numaralı dişlerin bukkal yüzeyleri, 11 ve 31 numaralı dişlerin labial yüzeyleri, 36 ve 46 numaralı dişlerin lingual yüzeyleri gözle ve normal diş hekimliği sondası ile değerlendirildi. Dişler plak indeksi kriterlerine göre incelendi (Tablo 3-1) ve elde edilen skorların toplamının diş sayısına bölünmesi ile plak indeksi elde edildi.

**Tablo 3-1: Plak indeks derecelendirmesi**

Derece	Ağız Hijyeni Kriterleri
0	Plak veya boya yok
1	Diş yüzeyinin üçte birinden fazla olmayan plak veya boyanmış alan varlığı
2	Diş yüzeyinin üçte birinden fazla, üçte ikisinden az plak varlığı
3	Diş yüzeyinin üçte ikisinden fazla plak varlığı

### 3.2.1.3. Modifiye Dişeti İndeksi

Kalp hastası ve kontrol grubu çocuklarda dişeti sağlığını ve enflamasyon varlığını değerlendirmek için non-invaziv bir yöntem olan Modifiye Dişeti İndeksi (Lobene ve ark. 1986) kullanıldı. Bakteremi gelişme riskini ortadan kaldırmak amacıyla

sondalama işleminin kullanılmadığı bu yöntemde, her diş için iki papilla ve iki dişeti kenarı değerlendirilerek elde edilen değerler toplanıp ortalaması alındı. Skorların toplanıp diş sayısına bölünmesiyle hastaya ait Modifiye Dişeti İndeksi değeri elde edildi (Tablo 3-2).

**Tablo 3-2: Modifiye Dişeti İndeksi Değerleri**

0	Sağlıklı dişeti
1	Dişetinde bir bölümde hafif derecede enflamasyon, renk değişikliği ve ödem var.
2	Dişetinde her bölgede hafif derecede enflamasyon var.
3	Dişetinde orta derecede enflamasyon var, dişeti kırmızı ve ödemli.
4	Dişetinde ileri derecede enflamasyon var, dişetinde belirgin kırmızılık ve ödem var, spontan kanama izlenir.

### 3.2.2. Tükürük ve Kan Örneklerinin Elde Edilmesi

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Kardiyolojisi Bilim Dalı ve İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Pedodonti Anabilim Dalı'na başvuran, son 3 ay içerisinde antibiyotik kullanmamış, 5-15 yaş grubu konjental kalp hastalığı bulunan 20 çocuk; kontrol grubunu oluşturan ve sistemik rahatsızlığı bulunmayan 20 sağlıklı çocuktan tükürük ve kan örnekleri, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı ve İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı klinikleri ve laboratuvarlarında, 1,5 saatlik açlık sonrası aynı gün içerisinde alındı.

Kalp hastası ve sağlıklı çocuklardan 100 ml'lik steril kap içerisine tükürmeleri istendi ve yaklaşık 5 ml uyarımsız tükürük örneği toplandı. Tüküremeyen çocuklardan tükürük, iğnesi takılmadan steril enjektörle çekilerek toplandı. Tükürük örnekleri alındıktan sonra 5 dakika içerisinde İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Mikrobiyolojisi Bilim Dalı Laboratuvarı'na götürüldü; tükürük örneklerinin 1.0 ml'si steril mikropipetler aracılığı ile 1 ml'lik ependorf tüplerine aktararak kullanıma kadar -20° C' da saklandı.

Kalp hastası ve sağlıklı çocuklardan venöz kan örnekleri 1,5 saatlik açlık sonrası görevli hemşire tarafından aseptik şartlarda antikoagülan içeriği EDTA olan mor kapaklı 2 ml'lik Vacutainer® tüplere alındı. Girişim yapılacak cilt bölgesi 30 saniye süre ile ileri geri sürtülerek %70 izopropil alkol ile silindi. Alkolün kuruması beklendikten sonra cilt %2'lik iyot solüsyonu merkezden dışa doğru dairesel hareketlerle, merkeze yeniden temas önlenecek şekilde silindi, 30 saniye kuruması beklendi. Cilt dezenfeksiyonundan sonra venin palpasyonunun gerektiği durumlarda eldivenli elin parmağı antiseptikle silinip kuruması beklendikten sonra temas edildi. Kan örnekleri alındıktan sonra 5 dakika içerisinde İstanbul Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi Ağız Mikrobiyoloji Bilim Dalı Laboratuvarı'na götürüldü.

### **3.2.3. Kan ve Tükürük Örneklerinin Mobil ve Oral Mikrobiyom Açısından İncelenmesi**

Kalp hastası ve kontrol grubundaki çocuklardan alınan kan örneklerinde serbest bakteriyel DNA tespiti ve toplam bakteri sayımı yapılarak, mobil mikrobiyom varlığı incelendi. Kalp hastası ve kontrol grubundaki çocuklardan alınan tükürük örneklerinde DNA izolasyonu yapılarak her bir örnek için toplam bakteri sayısı ve hedef mikroorganizmalar olarak belirlenen *S. mutans*, *S. mutans* serotip *k*, *A. actinomycetemcomitans*, *A. actinomycetemcomitans* JP2 klon, *F. nucleatum*, *P. gingivalis* ve *S. wiggsiae* için tespit ve miktar ölçümü yapılarak oral mikrobiyomun yapısı incelendi.

#### **3.2.3.1. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu**

Aseptik koşullarda EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri 6000g'de 10 dakika santrifüj edilerek üst kısımda elde edilen plazma 1,5ml'lik steril propilen tüplere alındı. Daha sonra elde edilen plazma örnekleri 16.000g'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatantı yeni 1,5ml'lik tüplere alındı. Bu örnekler DNA ekstraksiyonuna kadar -20°C'de saklandı. Elde edilen plazma örneklerinin 200 ml'sinden QIAamp® DNA Blood Mini Kit (QUIGEN, Hilden, Germany) kullanılarak üretici protokollerine uygun şekilde DNA izolasyonu gerçekleştirildi; elde edilen DNA örnekleri -20°C'de saklandı.



QIAamp DNA Blood MiniKit içeriği;

- QIAamp® mini kolon 5 x 10
- Toplama tüpleri (2 mL) 3 x 50
- AL tampon Xn HARMFUL 12 mL
- AW1 tampon (konsantre) Xn HARMFUL 19 mL
- AW2 tampon (konsantre) 13 mL
- AE tampon 12 mL
- QIAGEN proteaz 24 mg
- Proteaz çözücü 1.2 mL

### 3.2.3.2. Tükürük Örneklerinden DNA İzolasyonu

Tükürük örneklerinde DNA izolasyonu, her örnek için 250 µl tükürük kullanılarak, Saliva DNA Isolation Kit (Norgen Biotek, Canada) ile, üretici protokollerine uygun olarak gerçekleştirildi. Elde edilen DNA örnekleri -20° C de saklandı. Saliva DNA Isolation Kit içeriği;

- Lizis Tampon F 30 mL
- Proteaz K 1.2 mL
- Bağlayıcı Tampon B 12 mL
- Yıkama solüsyonu A 18 mL
- Elüsyon Tampon B 15 mL
- Spin Kolon 50 adet
- Toplama Tüpü 50 adet
- Elüsyon Tüpü (1.7 mL) 50 adet

### 3.2.3.3. Kan ve Tükürük Örneklerinden qPCR Analizi

Kan ve tükürük örneklerinin qPCR analizleri Artı Biyoteknoloji Laboratuvarında yapıldı. Kan örneklerinin analizi için plazmadan izole edilmiş DNA örnekleri, toplam

bakteri sayımı için Nadkarni ve ark. (2002) tarafından bildirilen bakteriyel 16S rDNA genini hedefleyen universal primer çifti ve insan DNA'sı tespiti için insan  $\beta$ -Globin genini hedefleyen primer çifti kullanılarak qPCR yöntemi ile çalışıldı (Tablo 3-6). Çalışma reaksiyon içeriği Tablo 3-3'deki gibi olup, GoTaq qPCR MasterMix kullanılarak Tablo 3-5'deki protokole göre gerçekleştirildi. Çalışmada; toplam bakteri sayımı için *P. gingivalis*, toplam insan DNA'sı sayımı için ise periferik kandan izole edilmiş DNA örneklerinin 10'ar kat seyreltilmesi ile hazırlanmış standartlar kullanıldı. Bu standartların konsantrasyonları ölçülerek içerdiği kopya sayısı dolaylı olarak hesaplandı.

Tükürük örneklerine yönelik qPCR çalışmalarında kullanılacak standartlar için, elde edilmiş stok DNA'lardan yapılan seyreltmeler kullanıldı. Bu amaç ile, yaklaşık 1ng/ $\mu$ l konsantrasyondaki ana stok DNA çözeltilerinin her birinin NanoDrop 2000 spektrofotometre cihazında ölçümleri alındı. Cihazın ölçüm alt limitine oldukça yakın olduğundan dolayı, her örnek için 5 ölçüm alınarak en yüksek ve en düşük olanlar dışlandı, geriye kalan 3 ölçümün ise ortalaması alınarak stok çözeltinin konsantrasyonu olarak kabul edildi. Standart örneklerindeki kopya sayısı hesaplamaları, ölçülen DNA konsantrasyonu ve mikroorganizmaların bilinen genom uzunlukları kullanılarak gerçekleştirildi. Çalışma reaksiyon içeriği Tablo 3-4'deki gibi olup, GoTaq qPCR MasterMix kullanılarak Tablo 3-5'deki protokole göre gerçekleştirildi. Pozitif kontrol olarak *S. mutans* serotype *k* (LJ23), *F. nucleatum* (ATCC 25586), *P. gingivalis* (ATCC 33277), *A. actinomycetemcomitans* JP2 Klon (ATCC 700685) ve *S. wiggsiae* (DSM 22547) referans suşlarının template DNA'sı, negatif kontrol olarak distile steril su kullanıldı.

qPCR analizlerinde her hedef mikroorganizma için tespit ve miktar ölçümü gerçekleştirildi. Her çalışma için standartların amplifikasyon eğrileri, tüm örneklerin amplifikasyon eğrileri ve verimini gösteren standart eğrilerin grafikleri elde edildi. Miktar hesaplaması, hazırlanan standartların sonuçlarından elde edilen standart eğri kullanılarak yapıldı.

İstatistik yazılımı "R version 3.4.0" ve içeriğindeki Pheatmap, ggplot2, pcaMethods, FactoMineR program paketleri kullanılarak bakteri sayılarına ve dağılımlarına ilişkin Heatmap, Box-plot, PCA grafikleri hazırlandı.

**Tablo 3-3: Kan örnekleri için qPCR reaksiyon içeriği**

1 reaksiyon (25µl toplam hacim)	
dH <sub>2</sub> O	5 µl
GoTaq MasterMix (2X)	12,5 µl
Primer F (2,5 mM)	1,25 µl
Primer R (2,5 mM)	1,25 µl
DNA	5 µl

**Tablo 3-4: Tükürük örnekleri için qPCR reaksiyon içeriği**

1 reaksiyon (25 µl toplam hacim)	
dH <sub>2</sub> O	8 µl
GoTaq MasterMix (2X)	12,5 µl
Primer F (2,5 mM)	1,25 µl
Primer R (2,5 mM)	1,25 µl
DNA	2 µl

**Tablo 3-5: qPCR çalışma programı**

	Program	Döngü sayısı
Enzim aktivasyonu /başlangıç denatürasyonu	95°C'de 2 dakika	1
Denatürasyon	95°C'de 15 saniye	40
Bağlanma ve uzatma	60°C'de 60 saniye	
Erime eğrisi analizi	60-95°C	1

**Tablo 3-6: Kalp hastası ve kontrol grubundaki çocukların tükürük ve kan örneklerinin qPCR incelemesinde kullanılan primerler**

Hedef mikroorganizma	Primer Dizisi (5'→3')	AU (bp)	Referans
<i>Aa</i>	CTAGGTATTGCGAAACAATTTG CCTGAAATTAAGCTGGTAATC	262	Goncharoff ve ark. 1993
<i>Aa JP2</i>	GCCGACACCAAAGACAAAGTCT GCCATAACCAAGCCACATAC	686	Poulsen 2003
<i>Fn</i>	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG GTCATCGTGACACAGAATTGCTG	360	Conrads ve ark. 1997
<i>Pg</i>	AGGCAGCTTGCCATACTGCG ACTGTTAGCAACTACCGATGT	404	Bogen ve Slots 1999
<i>Sm</i>	GGTCAGGAAAGTCTGGAGTAAAAAGG CTA GCGGTAGCTCCGGCACTAAGCC	282	Corpet 1988
<i>Smk</i>	ATTCCCGCCGTTGGACCATTCC CCAATGTGATTCATCCCATCAC	294	Nakano ve ark. 2004a
<i>Sw</i>	GTGGACTTTATGAATAAGC CTACCGTTAAGCAGTAAG	172	Tanner ve ark. 2011
Universal bakteri primeri	TCCTACGGGAGGCAGCAGT GGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTT	466	Nadkarni ve ark. 2002
İnsan β-Globin geni	GGTTGGCCAATCTACTCCAG TGGTCTCCTTAAACCTGTCTTG	226	Saiki ve ark. 1988

**AU:** Amplikon uzunluğu, **bp:** Baz çifti

### 3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 (Kaysville, Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotların (Ortalama, Standart Sapma, Medyan, Frekans, Oran, Minimum, Maksimum) yanı sıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım göstermeyen değişkenlerin iki grup karşılaştırmalarında Mann Whitney U testi; değişkenler arası ilişkilerin değerlendirilmesinde Spearman's Korelasyon Analizi; niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Pearson Ki-Kare ve Fisher's Exact testleri kullanıldı. Anlamlılık en az  $p < 0,05$  düzeyinde değerlendirildi.

## 4. BULGULAR

İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Anabilim Dalı Ağız Mikrobiyoloji Bilim Dalı ve İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Kardiyolojisi Bilim Dalı'nda Aralık 2016-Ocak 2018 tarihleri arasında gerçekleştirilen bu tez çalışmasında aşağıda belirtilen bulgular elde edildi:

### 4.1. Kalp Hastası ve Kontrol Grubundaki Çocukların Yaş ve Cinsiyet Açısından Değerlendirilmesi

Bu çalışma, konjenital kalp hastalığı bulunan 20 çocuk ve kontrol grubunu oluşturan, sistemik rahatsızlığı bulunmayan 20 çocuk olmak üzere toplam 40 çocuk ile gerçekleştirildi. Çocukların %50'si (n=20) kız, %50'si (n=20) erkek ve yaşları 6,5 ile 12,7 arasında değişmekte olup, ortalama yaş değeri  $9,96 \pm 1,59$  yıl olarak tespit edildi .

Kalp hastası ve kontrol grubundaki çocuklar gruplara göre değerlendirildiğinde, kalp hastası grupta yaş ortalaması  $9,90 \pm 1,66$  yaş; kontrol grubunda  $10,02 \pm 1,55$  yaş olarak bulundu. Kalp hastası ve kontrol grubu çocukların yaş dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p > 0,05$ ).

Kalp hastası grubunun %65,0'i (n=13) erkek, %35,0'i (n=7) kız; kontrol grubunun %35,0'i (n=7) erkek, %65,0'i (n=13) kız olarak saptandı. Kalp hastası ve kontrol grubu çocukların cinsiyet dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği belirlendi ( $p > 0,05$ ). (Tablo 4-1)

**Tablo 4-1: Çocukların yaş ve cinsiyet özelliklerinin değerlendirilmesi**

		Toplam (n=40)	Kalp hastası grup (n=20)	Kontrol grubu (n=20)	<i>p</i>
<b>Yaş (yıl)</b>	<i>Min-Mak</i>	6,5-12,7 (10)	7-12,7 (9,9)	6,5-12,6 (10)	<sup>a</sup> <b>0,808</b>
	<i>(Medyan)</i>				
	<i>Ort±Ss</i>	9,96±1,59	9,90±1,66	10,02±1,55	
<b>Cinsiyet; n (%)</b>	<b>Erkek</b>	20 (50,0)	13 (65,0)	7 (35,0)	<sup>b</sup> <b>0,058</b>
	<b>Kız</b>	20 (50,0)	7 (35,0)	13 (65,0)	

<sup>a</sup>Mann Whitney U Test

<sup>b</sup>Pearson Chi-Square Test

#### 4.2. Kalp Hastası ve Kontrol Grubundaki Çocukların İndeks Değerleri Açısından Değerlendirilmesi

Çalışmaya katılan tüm çocuklarda saptanan çürük indeksi, plak indeksi ve modifiye dişeti indeks değerlerine ilişkin dağılım ve ortalama değerler Tablo 4-2’te görülmektedir. Çürük indeksine ilişkin ölçümler incelendiğinde; DMFT değerlerinin 0-14 arasında değiştiği ve ortalama DMFT değerinin  $4,03 \pm 3,32$  olduğu; DMFS değerlerinin 0-32 arasında değiştiği ve ortalama DMFS değerinin  $7,85 \pm 7,39$  olduğu saptandı. dft değerlerinin 0-15 arasında değiştiği, ortalama dft değerinin  $4,30 \pm 3,94$  olduğu; dfs değerlerinin 0-36 arasında değiştiği ve ortalama dfs değerinin  $11,95 \pm 12,18$  olduğu belirlendi. DMFT+dft toplam değerlerinin ise 0-15 arasında değiştiği ve ortalama toplam DMFT+dft değerinin  $8,33 \pm 4,29$  olduğu; DMFS+ dfs toplam değerlerinin 0-44 arasında değiştiği ve ortalama toplam DMFS+dfs değerinin  $19,80 \pm 12,69$  olduğu saptandı.

Plak indeksi değerlerinin 0-3 arasında değiştiği, ortalama plak indeks değerinin  $1,35 \pm 0,78$ ; modifiye dişeti indeksi değerlerinin ise 0,2-1,8 arasında değiştiği ve ortalama dişeti indeks değerinin  $0,92 \pm 0,49$  olduğu belirlendi.

**Tablo 4-2: Çalışmaya katılan tüm çocukların çürük indeksi, plak indeksi ve modifiye dişeti indeksi açısından değerlendirilmesi**

<b>Çürük indeksi</b>		
<b>DMFT</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	0-14 (4)
	<i>Ort±Ss</i>	$4,03 \pm 3,32$
<b>DMFS</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	0-32 (6)
	<i>Ort±Ss</i>	$7,85 \pm 7,39$
<b>dft</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	0-15 (3)
	<i>Ort±Ss</i>	$4,30 \pm 3,94$
<b>dfs</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	0-36 (8,5)
	<i>Ort±Ss</i>	$11,95 \pm 12,18$
<b>DMFT+ dft</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	0-15 (8)
	<i>Ort±Ss</i>	$8,33 \pm 4,29$
<b>DMFS+ dfs</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	0-44 (17,5)
	<i>Ort±Ss</i>	$19,80 \pm 12,69$
<b>Plak indeksi</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	0-3 (1)
	<i>Ort±Ss</i>	$1,35 \pm 0,78$
<b>Modifiye Dişeti indeksi</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	0,2-1,8 (0,8)
	<i>Ort±Ss</i>	$0,92 \pm 0,49$

Kalp hastası ve kontrol grubundaki çocukların çürük indeksi, plak indeksi ve modifiye dişeti indeksine ilişkin dağılım, ortalama ve p değerlerine ilişkin bulgular Tablo 4-3'te gösterilmektedir.

Kalp hastası çocuklarda ortalama DMFT, DMFS, dft, dfs değerleri sırasıyla  $2,85 \pm 2,18$ ,  $5,55 \pm 5,22$ ,  $4,10 \pm 3,55$ ,  $11,35 \pm 11,37$ ,  $6,95 \pm 3,82$ ,  $16,90 \pm 11,93$  olarak bulundu.

Kontrol grubu çocuklarda ortalama DMFT, DMFS, dft, dfs değerleri ise  $5,20 \pm 3,87$ ,  $10,15 \pm 8,59$ ,  $4,50 \pm 4,37$ ,  $12,55 \pm 13,20$ ,  $9,70 \pm 4,38$ ,  $22,70 \pm 13,05$  olarak saptandı.

Gruplara göre DMFT ve DMFS değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmış olup; kalp hastası grubu değerleri kontrol grubundan anlamlı düzeyde düşük bulundu ( $p=0,036$  ve  $p=0,045$ ;  $p<0,05$ ). (Şekil 4-1 ve Şekil 4-2)

Gruplara göre dft ve dfs değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ).

Kalp hastası ve kontrol grubunda toplam ortalama DMFT+dft değerleri sırası ile  $6,95 \pm 3,82$  ve  $9,70 \pm 4,38$  olarak elde edildi. Kalp ve kontrol grubunda elde edilen toplam DMFT+dft değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı saptandı ( $p=0,068$ ;  $p>0,05$ ).

Kalp hastası ve kontrol grubunda ortalama DMFS+dfs değerleri sırası ile  $16,90 \pm 11,93$  ve  $22,70 \pm 13,05$  olarak belirlendi. Kalp ve kontrol grubunda elde edilen toplam DMFS+dfs değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Kalp hastası ve kontrol grubunda ortalama plak indeks değerleri  $1,24 \pm 0,84$  ve  $1,47 \pm 0,72$  olarak elde edildi; kalp ve kontrol grubuna ilişkin plak indeksleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ).

Kalp hastası ve kontrol grubunda ortalama modifiye dişeti indeks değerleri  $1,07 \pm 0,47$  ve  $0,77 \pm 0,48$  olarak bulundu; kalp hastası grubunda saptanan modifiye dişeti indeks değerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlendi ( $p=0,023$ ;  $p<0,05$ ) (Şekil 4-3).

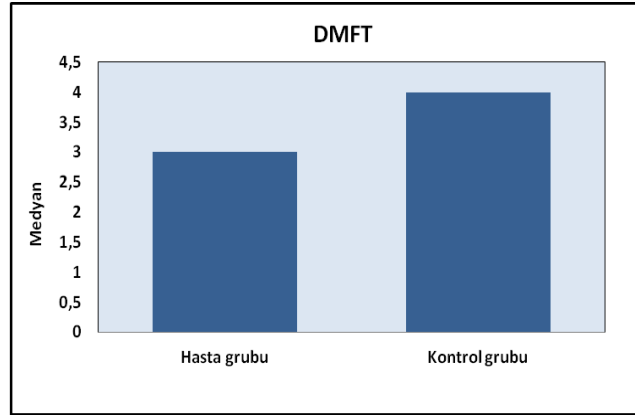
**Tablo 4-3: Kalp hastası ve kontrol grubundaki çocukların çürük indeksi, plak indeksi ve modifiye dişeti indeksi ölçümlerinin değerlendirilmesi**

		Kalp hastası grup (n=20)	Kontrol grubu (n=20)	<sup>a</sup> p
<b>Çürük indeksi</b>				
<b>DMFT</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	0-8 (3)	0-14 (4)	<b>0,036*</b>
	<i>Ort±Ss</i>	2,85±2,18	5,20±3,87	
<b>DMFS</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	0-18 (4,5)	0-32 (7,5)	<b>0,045*</b>
	<i>Ort±Ss</i>	5,55±5,22	10,15±8,59	
<b>dft</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	0-10 (4)	0-15 (2)	<b>0,859</b>
	<i>Ort±Ss</i>	4,10±3,55	4,50±4,37	
<b>dfs</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	0-35 (10,5)	0-36 (6)	<b>0,785</b>
	<i>Ort±Ss</i>	11,35±11,37	12,55±13,20	
<b>DMFT+ dft</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	0-15 (6)	2-15 (10)	<b>0,068</b>
	<i>Ort±Ss</i>	6,95±3,82	9,70±4,38	
<b>DMFS+ dfs</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	0-44 (13,5)	4-44 (21,5)	<b>0,180</b>
	<i>Ort±Ss</i>	16,90±11,93	22,70±13,05	
<b>Plak indeksi</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	0-3 (1)	0-3 (1,4)	<b>0,305</b>
	<i>Ort±Ss</i>	1,24±0,84	1,47±0,72	
<b>Modifiye Dişeti indeksi</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	0,3-1,8 (1,1)	0,2-1,5 (0,5)	<b>0,023*</b>
	<i>Ort±Ss</i>	1,07±0,47	0,77±0,48	

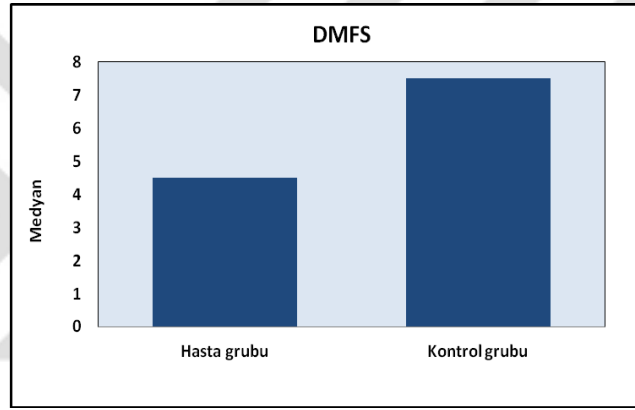
<sup>a</sup>Mann Whitney U Test

\*p<0,05

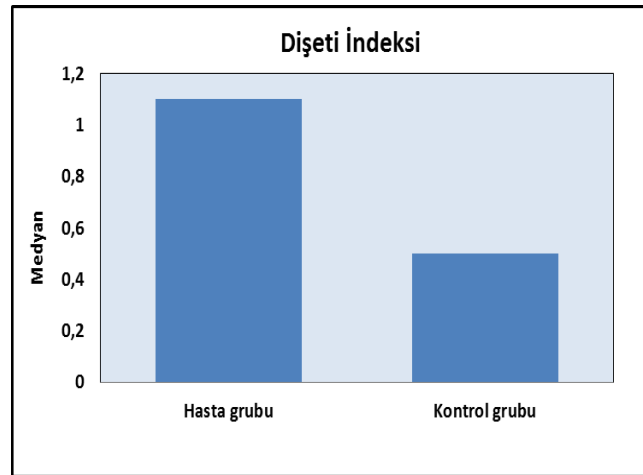




Şekil 4-1: Kalp hastası ve kontrol grubu çocuklarda saptanan DMFT değerlerinin dağılımı



Şekil 4-2: Kalp hastası ve kontrol grubu çocuklarda saptanan DMFS değerlerinin dağılımı



Şekil 4-3: Kalp hastası ve kontrol grubu çocuklarda saptanan modifiye dişeti indeksi değerlerinin dağılımı

### 4.3. Kalp Hastası ve Kontrol Grubu Çocuklarda Kan Örneklerinin Mobil Mikrobiyom Açısından Değerlendirilmesi

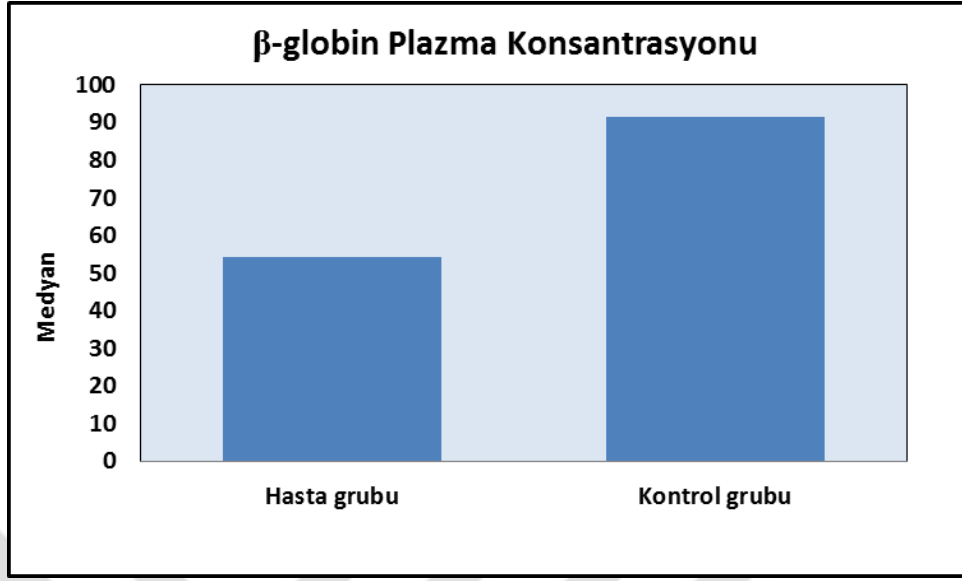
Kalp hastası ve kontrol grubu çocuklardan alınan venöz kan örneklerinden izole edilen DNA örneklerinin her 5µl'sinde bulunan insan DNA'sı kopya sayıları, qPCR analizi ile insan β-globin genini hedefleyen primerler kullanılarak ölçüldü; plazmadan DNA izolasyonu protokolünün başarılı çalıştığına göstergesi de olan β-globinin tüm örneklerde elde edildiği gözlemlendi. Kalp hastası ve kontrol grubuna ilişkin tüm örneklerde yüksek güvenilirlikle insan DNA'sı olduğu tespit edildi (Tablo 4-4 ve Şekil 4-4).

Kalp ve kontrol gruplarında elde edilen β-globin plazma konsantrasyonu değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı; kalp hastası grubunda β-globin değerleri kontrol grubu değerlerine göre anlamlı düzeyde düşük olarak bulundu ( $p=0,021$ ;  $p<0,05$ ).

**Tablo 4-4: Her plazma örneğinden izole edilen DNA örneklerinin 5µl'sinde bulunduğu hesaplanan β-globin kopya sayıları.**

Kontrol Grubu	Ct	Kopya sayısı	Kalp Hastası Grup	Ct	Kopya Sayısı
Örnek 1	32,56	141	Örnek 21	35,99	26,6
Örnek 2	33,67	82,1	Örnek 22	25,58	4150
Örnek 3	27,21	1880	Örnek 23	34,82	46,9
Örnek 4	34,39	57,9	Örnek 24	35,59	32,3
Örnek 5	33,25	101	Örnek 25	34,21	63,1
Örnek 6	33,67	82,1	Örnek 26	32,02	183
Örnek 7	34,19	63,6	Örnek 27	33,35	95,7
Örnek 8	32,65	134	Örnek 28	33,87	74,6
Örnek 9	35,08	41,4	Örnek 29	34,32	60
Örnek 10	28,59	966	Örnek 30	32,2	167
Örnek 11	32,56	141	Örnek 31	36,76	18,3
Örnek 12	35,72	30,3	Örnek 32	36,14	24,7
Örnek 13	27,90	1350	Örnek 33	35,79	29,3
Örnek 14	33,19	104	Örnek 34	34,33	59,6
Örnek 15	33,92	72,6	Örnek 35	35,9	27,8
Örnek 16	26,47	2700	Örnek 36	34,75	48,6
Örnek 17	33,85	75,2	Örnek 37	35,24	38,2
Örnek 18	27,62	1550	Örnek 38	27,48	1650
Örnek 19	33,90	73,5	Örnek 39	31,01	298
Örnek 20	33,79	77,4	Örnek 40	35,66	31,3

**Ct:** "Cycle threshold"; döngü eşik değeri



**Şekil 4-4: Gruplara göre β-globin plazma konsantrasyonu değerleri**

Kalp hastası ve kontrol grubu çocuklardan alınan venöz kan örneklerinden izole edilen DNA örneklerinin her 5ul'sinde bulunan bakteriyel DNA kopya sayıları, qPCR analizi ile bakteriyel 16S rDNA genini hedefleyen universal primer çifti kullanılarak ölçülmesi sonrası bakteri DNA analizine ilişkin bulgular Tablo 4-5'te görülmektedir.

Tüm plazma örneklerinin analizi sonucunda, kalp hastası grubunda bir çocukta (örnek no:22, kopya sayısı:32.8), kontrol grubunda bir çocukta (örnek no:5, kopya sayısı:87.51) yüksek güvenilirlikle bakteri DNA'sı tespit edildi. Diğer tüm plazma örneklerinde bakteri DNA'sı düzeyi değerleri 1-12 kopya olarak değişen düzeylerde hesaplandı; bakteri DNA'sının çok düşük düzeylerde tespit edildiği örneklerde saptanan bu bulgular hatalı pozitif olarak yorumlandı ve değerlendirilmeye alınmadı. Tüm bu bulguların değerlendirilmesi sonucunda, kalp ve kontrol grubu çocukların toplam iki plazma örneğinde bakteri DNA'sının pozitif olduğu sonucuna varıldı.

**Tablo 4-5: Her plazma örneğinden izole edilen DNA örneklerinin 5µl’inde bulunduğu hesaplanan bakteri DNA’sı kopya sayıları.**

Kontrol Grubu			Kalp Hastası Grup		
	Ct	Kopya sayısı		Ct	Kopya Sayısı
Örnek 1	29,81	2,61	Örnek 21	31,01	1,70
Örnek 2	28,88	4,01	<b>Örnek 22</b>	<b>25,68</b>	<b>32,8</b>
Örnek 3	31,68	1,41	Örnek 23	31,94	1,33
Örnek 4	31,61	1,15	Örnek 24	29,74	2,68
<b>Örnek 5</b>	<b>24,55</b>	<b>87,5</b>	Örnek 25	31,79	1,38
Örnek 6	34	1,05	Örnek 26	31,13	1,64
Örnek 7	32,14	1,28	Örnek 27	31,62	1,43
Örnek 8	33,89	1,05	Örnek 28	28,13	6
Örnek 9	31,58	1,45	Örnek 29	31,26	1,58
Örnek 10	31,61	1,44	Örnek 30	33,96	1,05
Örnek 11	29,14	3,53	Örnek 31	37,88	2
Örnek 12	27,98	6,55	Örnek 32	30,62	1,92
Örnek 13	30,88	1,76	Örnek 33	30,52	1,99
Örnek 14	33,14	1,10	Örnek 34	30,51	2
Örnek 15	32,36	1,23	Örnek 35	28,93	3,90
Örnek 16	30,53	1,98	Örnek 36	32,32	1,24
Örnek 17	32,8	1,15	Örnek 37	31,17	1,62
Örnek 18	32,95	1,13	Örnek 38	31,59	1,45
Örnek 19	33,73	1,06	Örnek 39	29,98	2,43
Örnek 20	27,07	11,7	Örnek 40	30,17	2,26

Ct: “Cycle threshold”; döngü eşik değeri

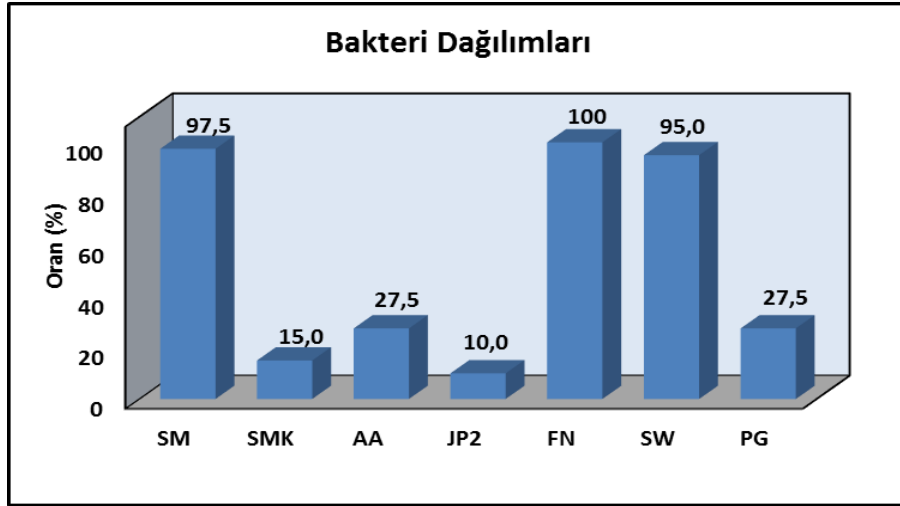
#### 4.4. Kalp Hastası ve Kontrol Grubu Çocuklarda Oral Mikrobiyomun Hedef Bakteriler Açısından Değerlendirilmesi

Kalp hastası ve kontrol grubu çocuklardan elde edilen tükürük örneklerinden izole edilen DNA örneklerinde qPCR analizi ve 16SrRNA genini hedefleyen universal bakteri primeri kullanılması ile saptanan hedef bakterilere ve toplam bakteri sayılarına ilişkin elde edilen bulgular Tablo 4-6 ve Şekil 4-5’de gösterilmektedir.

Kalp hastası ve kontrol grubu çocuklardan alınan tüm tükürük örneklerinin %97,5’inde (n=39) *S. mutans*, %15,0’inde (n=6) *S. mutans* serotip *k*, %27,5’inde (n=11) *A. actinomycetemcomitans*, %10,0’unda (n=4) *A. actinomycetemcomitans* JP2 klon, tamamında (n=40) *F. nucleatum*, %95,0’inde (n=38) *S. wiggsiae* ve %27,5’inde (n=11) *P. gingivalis* bakteri tipleri saptandı. Total bakteri sayılarının 200µl uyarılmamış tükürük örneğinde 131.000 ile 22.600.000 arasında değiştiği, ortalama total bakteri sayısının ise  $6.110.175,00 \pm 5.544.995,23$  olduğu belirlendi.

**Tablo 4-6: Çalışmaya katılan tüm çocukların tükürük örneklerinden izole edilen hedef bakteri ve toplam bakteri sayılarına ilişkin dağılım**

<b>Bakteri Konsantrasyonu</b>		
<b><i>S. mutans</i> n (%)</b>	<b>Yok</b>	1 (2,5)
	<b>Var</b>	39 (97,5)
<b><i>S. mutans</i> sayısı (n=39)</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	17,6-30500 (1960)
	<i>Ort±Ss</i>	3386,25±5185,36
<b><i>S.mutans</i> serotip <i>k</i>; n (%)</b>	<b>Yok</b>	34 (85,0)
	<b>Var</b>	6 (15,0)
<b><i>S.mutans</i> serotip <i>k</i> sayısı (n=6)</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	982-28700 (2595)
	<i>Ort±Ss</i>	7407,00±10818,87
<b><i>A.actinomycetemcomitans</i>; n (%)</b>	<b>Yok</b>	29 (72,5)
	<b>Var</b>	11 (27,5)
<b><i>A.actinomycetemcomitans</i> sayısı (n=11)</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	6870-150000 (37800)
	<i>Ort±Ss</i>	50751,82±42817,29
<b><i>A.actinomycetemcomitans</i> JP2 klon; n (%)</b>	<b>Yok</b>	36 (90,0)
	<b>Var</b>	4 (10,0)
<b><i>A.actinomycetemcomitans</i> JP2 klon sayısı (n=4)</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	99,7-437 (99,7)
	<i>Ort±Ss</i>	184,03±168,65
<b><i>F. nucleatum</i>; n (%)</b>	<b>Yok</b>	0 (0)
	<b>Var</b>	40 (100)
<b><i>F. nucleatum</i> sayısı (n=40)</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	18900-2750000 (517500)
	<i>Ort±Ss</i>	621767,50±574778,07
<b><i>S. wiggisiae</i>; n (%)</b>	<b>Yok</b>	2 (5,0)
	<b>Var</b>	38 (95,0)
<b><i>S. wiggisiae</i> sayısı (n=38)</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	1,8-1150 (124,5)
	<i>Ort±Ss</i>	200,22±254,59
<b><i>P. gingivalis</i>; n (%)</b>	<b>Yok</b>	29 (72,5)
	<b>Var</b>	11 (27,5)
<b><i>P. gingivalis</i> sayısı (n=11)</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	1,1-32500 (11000)
	<i>Ort±Ss</i>	11956,23±10673,75
<b>Total bakteri sayısı</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	131000-22600000 (5070000)
	<i>Ort±Ss</i>	6110175,00±5544995,23



**Şekil 4-5: Çalışmaya katılan çocukların tükürük örneklerinde hedef bakterilerin dağılımları**

Kalp hastası ve kontrol grubundaki çocuklardan alınan tükürük örneklerinden izole edilen hedef bakteri ve toplam bakteri sayısının gruplara göre dağılımı Tablo 4-7'de gösterilmektedir.

*S. mutans* oranları ve sayılarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ). *S. mutans* serotip *k* oranlarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ).

*A. actinomycetemcomitans* oranlarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ). *A. actinomycetemcomitans* ve *A. actinomycetemcomitans* JP2 klon saptanan çocuk sayısı yetersiz olduğundan bu bakterilerin sayıları gruplara göre istatistiksel olarak değerlendirilemedi.

*F. nucleatum* oranları ve sayılarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ).

*S. wiggsiae* oranları ve sayılarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ).

*P. gingivalis* oranları ve sayılarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ).

Gruplara göre total bakteri sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Gruplara göre hedef bakterilerin toplam bakteri sayısına oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ) (Tablo 4-8).

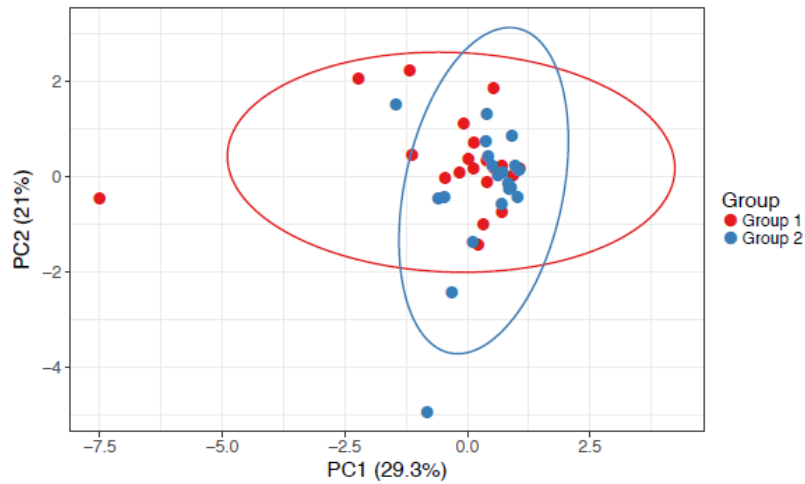
**Tablo 4-7: Gruplara göre tükürük örneklerinden izole edilen hedef bakteri ve toplam bakteri sayısına ilişkin dağılım**

		Kalp hastası grup (n=20)	Kontrol grubu (n=20)	<i>p</i>
<b>Sm; n (%)</b>	<b>Yok</b>	1 (5,0)	0 (0)	<sup>c</sup> <b>1,000</b>
	<b>Var</b>	19 (95,0)	20 (100)	
<b>Sm sayısı (n=39)</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	17,6-6480 (1430)	60,2-30500 (2470)	<sup>a</sup> <b>0,384</b>
	<i>Ort±Ss</i>	2269,19±2136,98	4447,46±6856,84	
<b>Smk; n (%)</b>	<b>Yok</b>	18 (90,0)	16 (80,0)	<sup>c</sup> <b>0,661</b>
	<b>Var</b>	2 (10,0)	4 (20,0)	
<b>Smk sayısı (n=6)</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	982-8500 (4741)	1070-28700 (2595)	-
	<i>Ort±Ss</i>	4741,00±5316,03	8740,00±13362,34	
<b>Aa; n (%)</b>	<b>Yok</b>	16 (80,0)	13 (65,0)	<sup>b</sup> <b>0,288</b>
	<b>Var</b>	4 (20,0)	7 (35,0)	
<b>Aa sayısı (n=11)</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	6870-72200 (17850)	11200-150000 (57600)	-
	<i>Ort±Ss</i>	28692,50±29568,28	63357,14±45919,56	
<b>JP2; n (%)</b>	<b>Yok</b>	17 (85,0)	19 (95,0)	<sup>c</sup> <b>0,605</b>
	<b>Var</b>	3 (15,0)	1 (5,0)	
<b>JP2 sayısı (n=4)</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	99,7-437 (99,7)	99,7-99,7 (99,7)	-
	<i>Ort±Ss</i>	212,13±194,74	99,70±0	
<b>Fn; n (%)</b>	<b>Yok</b>	0 (0)	0 (0)	<sup>c</sup> <b>1,000</b>
	<b>Var</b>	20 (100)	20 (100)	
<b>Fn sayısı (n=40)</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	18900-1550000 (353500)	23000-2750000 (532000)	<sup>a</sup> <b>0,185</b>
	<i>Ort±Ss</i>	491785,00±439534,17	751750,00±670349,07	
<b>Sw; n (%)</b>	<b>Yok</b>	1 (5,0)	1 (5,0)	<sup>c</sup> <b>1,000</b>
	<b>Var</b>	19 (95,0)	19 (95,0)	
<b>Sw sayısı (n=38)</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	1,8-1150 (80,5)	3,6-710 (131)	<sup>a</sup> <b>0,715</b>
	<i>Ort±Ss</i>	220,22±294,54	180,23±213,63	
<b>Pg; n (%)</b>	<b>Yok</b>	14 (70,0)	15 (75,0)	<sup>b</sup> <b>0,723</b>
	<b>Var</b>	6 (30,0)	5 (25,0)	
<b>Pg sayısı (n=11)</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	1,1-24300 (7085)	4050-32500 (11200)	<sup>a</sup> <b>0,273</b>
	<i>Ort±Ss</i>	8609,75±9469,84	15972,00±11651,98	
<b>Total bakteri sayısı</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	131000-16600000 (4195000)	181000-22600000 (5170000)	<sup>a</sup> <b>0,317</b>
	<i>Ort±Ss</i>	4900400,00±4229398,15	7319950,00±6491781,55	

**Tablo 4-8: Elde edilen mikroorganizma sayılarının ve toplam bakteri sayılarına oranlarının gruplar arası karşılaştırma (unpaired t-test, two tailed) sonucu hesaplanan p-değerleri**

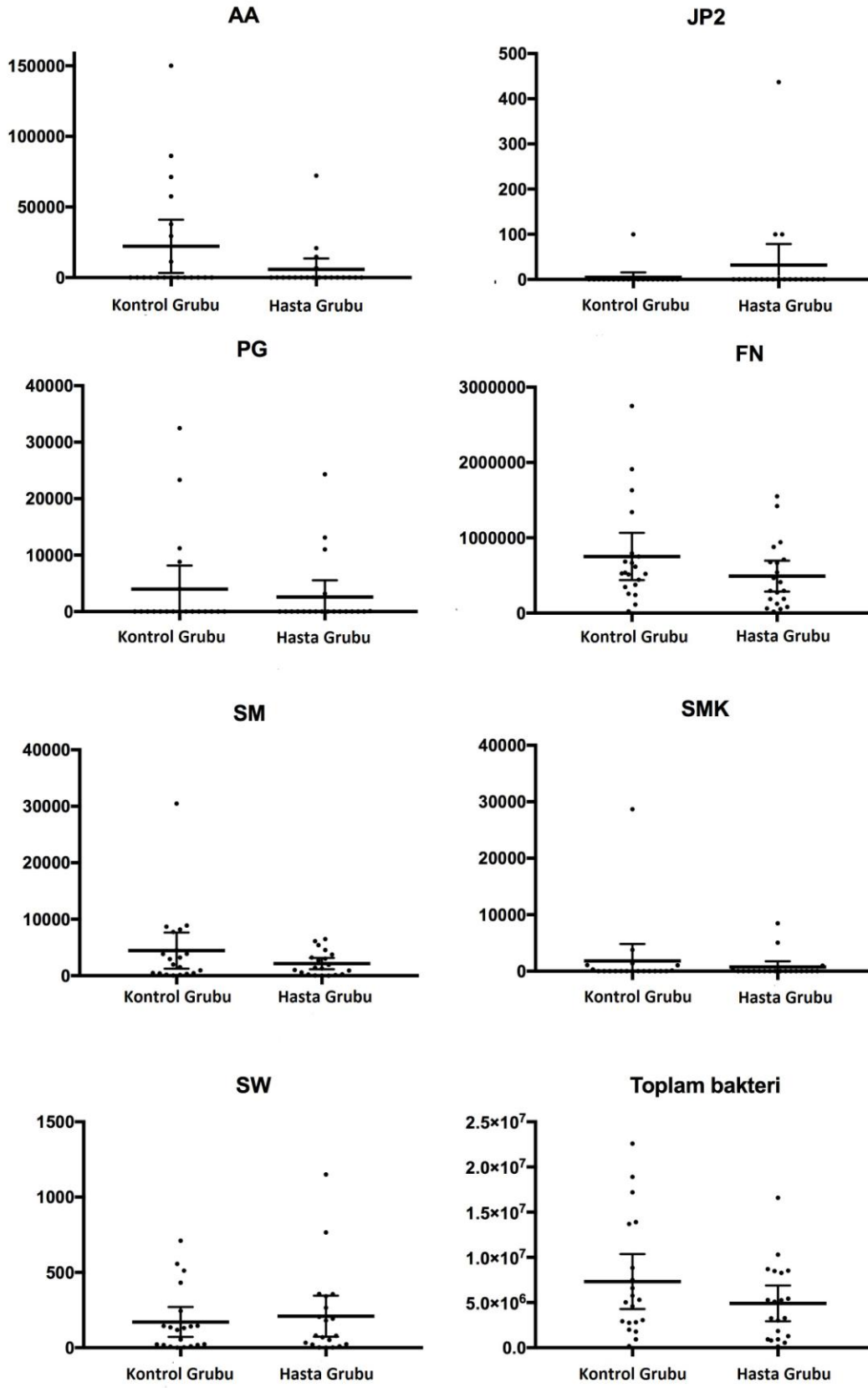
Hedef mikroorganizma	p-değeri	
	Mikroorganizma sayısı karşılaştırması	Toplam bakteri sayısına oranların karşılaştırması
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	0,1003	0,0609
<i>A. actinomycetemcomitans</i> JP2 klonu	0,2495	0,6764
<i>F. nucleatum</i>	0,1552	0,4431
<i>P. gingivalis</i>	0,5665	0,8281
<i>S. mutans</i>	0,1618	0,4493
<i>S. mutans</i> serotip k	0,4763	0,9136
<i>S. wiggisiae</i>	0,6395	0,286
Toplam bakteri	0,1706	-

Kalp hastası ve kontrol grubundaki çocukların tükürüklerinden izole edilen toplam bakteri sayısının karşılaştırılmasını gösteren PCA (Temel Bileşenler Analizi) grafiği Şekil 4-6'da, hedef bakterilerin ve toplam bakteri sayısının dağılımını gösteren Box-plot grafiği Şekil 4-7'de, tükürük örneklerinden izole edilen hedef bakterilerin sayılarına ilişkin oluşturulan Heatmap grafiği Şekil 4-8'de gösterilmiştir.

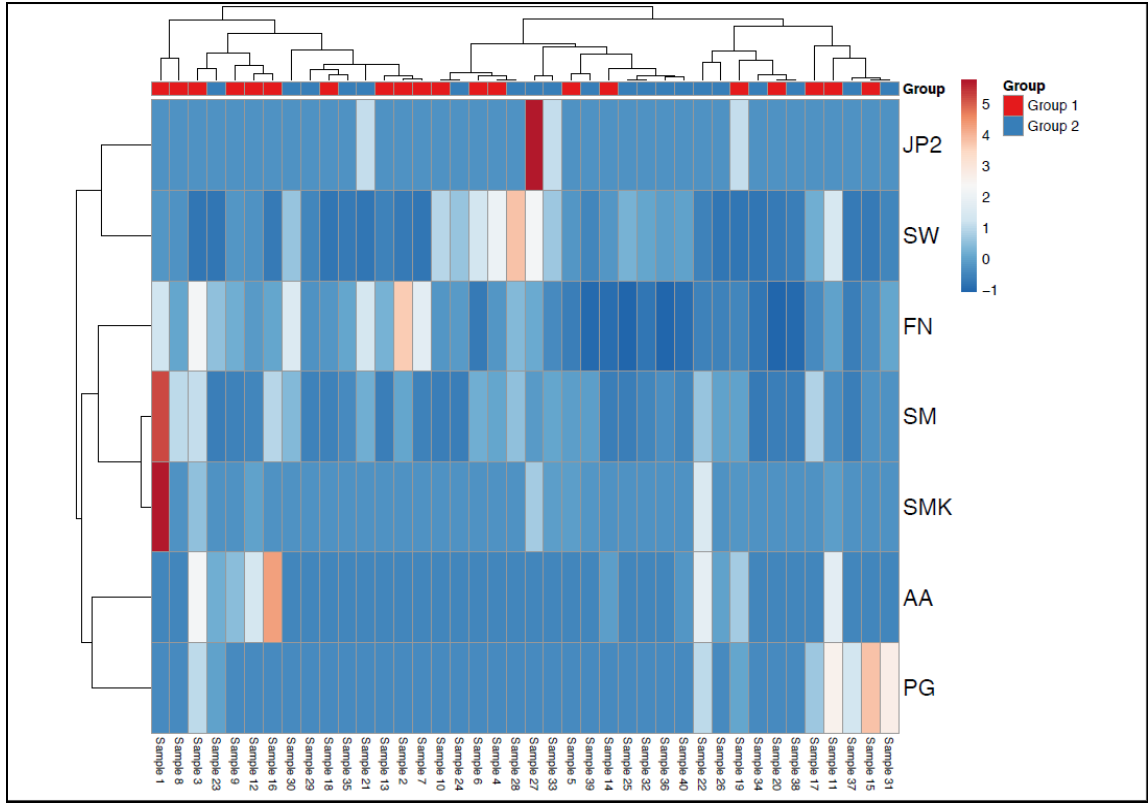


**Şekil 4-6: Kalp hastası ve kontrol grubundaki çocukların tükürüklerinden izole edilen toplam bakteri sayısının karşılaştırılmasını gösteren PCA grafiği (Group1=Kontrol grubu, Group2=Kalp hastası grup)**





Şekil 4-7: Gruplara göre hedef bakterilerin ve toplam bakteri sayısının Box-plot grafiği



**Şekil 4-8: Hedef bakterilerin 200µl uyarılmamış tükürük örneğinde ölçülen sayılarına ilişkin Heatmap grafiği (Group 1: kontrol grubu, Group 2: Kalp hastası grubu)**

#### **4.5. Kalp Hastası ve Kontrol Grubu Çocukların Tükürük Örneklerinde Saptanan Hedef Bakterilerin İndeks Değerleri ile İlişkinin Değerlendirilmesi**

Çalışmaya katılan çocuklardan alınan tükürük örneklerinden izole edilen hedef bakterilerin varlığı ile ağız içi indeks ölçümlerinin ilişkisinin değerlendirilmesi Tablo 4-9'da gösterilmektedir.

*S. mutans* serotip *k* varlığı ile çürük indeksi, plak indeksi ve gingival indeks arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı ( $p>0,05$ ).

*A. actinomycetemcomitans* varlığı ile çürük indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gözlenmezken ( $p>0,05$ ); *A. actinomycetemcomitans* görülen çocuklarda plak indeksi ( $p=0,010$ ) ve modifiye dişeti indeksi değerleri ( $p=0,015$ ) *A. actinomycetemcomitans* görülmeyenlerden anlamlı düzeyde yüksek bulundu ( $p<0,05$ ).

*P. gingivalis* varlığı ile çürük indeksi ve plak indeksi istatistiksel olarak anlamlı ilişki göstermezken ( $p>0,05$ ); *P. gingivalis* görülen çocuklarda modifiye dişeti indeksi *P. gingivalis* görülmeyenlerden anlamlı düzeyde yüksek olarak saptandı ( $p=0,003$ ;  $p<0,01$ ).

*A. actinomycetemcomitans* JP2 klonu bulunan olgu sayısı ve *S. mutans*, *F. nucleatum*, *S. wiggsiae* bulunmayan olgu sayıları yetersiz olduğundan istatistiksel olarak çürük indeksi, plak indeksi ve modifiye dişeti indeksi değerlendirmeleri yapılamadı.

**Tablo 4-9: Tükürük örneklerinde hedef bakterilerin varlığına göre indeks ölçümlerinin değerlendirilmesi**

		n	Çürük indeksi		Plak indeksi	Modifiye Dişeti indeksi
			DMFT+ dft	DMFS+ dfs		
			<i>Ort±Ss (Medyan)</i>	<i>Ort±Ss (Medyan)</i>	<i>Ort±Ss (Medyan)</i>	<i>Ort±Ss (Medyan)</i>
SM	Yok	1	6,00±0 (6)	9,00±0 (9)	1,00±0 (1)	0,78±0 (0,8)
	Var	39	8,38±4,33 (8)	20,08±12,73 (18)	1,36±0,79 (1)	0,92±0,50(0,8)
			<i>p</i> -	-	-	-
SMK	Yok	34	7,97±4,02 (7,5)	18,82±11,54 (17,5)	1,31±0,75 (1)	0,89±0,48 (0,8)
	Var	6	10,33±5,57 (12)	25,33±18,26 (25,5)	1,61±0,97 (1,8)	1,07±0,57 (1,4)
			<sup>a</sup> <i>p</i> 0,202	0,363	0,332	0,518
AA	Yok	29	7,66±4,41 (6)	17,93±11,72 (17)	1,18±0,79 (1)	0,80±0,44 (0,8)
	Var	11	10,09±3,53 (9)	24,73±14,38 (23)	1,80±0,56 (2)	1,23±0,52 (1,4)
			<sup>a</sup> <i>p</i> 0,085	0,159	0,010*	0,015*
JP2	Yok	36	8,58±4,23 (8)	20,92±12,76 (18,5)	1,36±0,69 (1)	0,89±0,49 (0,8)
	Var	4	6,00±4,69 (5,5)	9,75±6,55 (9,5)	1,25±1,50 (1)	1,13±0,54 (1,3)
			<i>p</i> -	-	-	-
FN	Yok	0	-	-	-	-
	Var	40	8,33±4,29 (8)	19,80±12,69 (17,5)	1,35±0,78 (1)	0,92±0,49 (0,8)
			<i>p</i> -	-	-	-
SW	Yok	2	7,50±2,12 (7,5)	9,00±0 (9)	1,50±0,71 (1,5)	1,06±0,39 (1,1)
	Var	38	8,37±4,38 (8)	20,37±12,77 (18)	1,35±0,79 (1)	0,91±0,50(0,8)
			<i>p</i> -	-	-	-
PG	Yok	29	8,00±4,21 (7)	18,93±12,26 (17)	1,25±0,84 (1)	0,78±0,48 (0,6)
	Var	11	9,18±4,58 (9)	22,09±14,12 (21)	1,63±0,50 (1,7)	1,29±0,32 (1,4)
			<sup>a</sup> <i>p</i> 0,329	0,413	0,077	0,003**

Çalışmaya katılan çocuklardan alınan tükürük örneklerinden izole edilen hedef bakterilerin sayısı ve toplam bakteri sayısı ile ağız içi indeks ölçümlerinin ilişkisinin değerlendirilmesi Tablo 4-10'da gösterilmektedir.

*S. mutans* sayısı ile DMFT+dft ölçümleri arasında pozitif yönlü (DMFT+dft arttıkça *S. mutans* sayısı artan) %42,2 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (r: 0,422; p=0,007; p<0,01).

*S. mutans* sayısı ile DMFS+dfs ölçümleri arasında pozitif yönlü (DMFS+dfs arttıkça *S. mutans* sayısı artan) %46,1 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu (r: 0,461; p=0,003; p<0,01).

*S. mutans* sayısı ile plak indeksi ve modifiye dişeti indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p>0,05).

*S. mutans* seroitp k sayısı ile DMFT+dft ölçümleri arasında pozitif yönlü (DMFT+dft arttıkça *S. mutans* seroitp k sayısı artan) %88,0 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (r: 0,880; p=0,021; p<0,05).

*S. mutans* seroitp k sayısı ile DMFS+dfs ölçümleri, plak indeksi ve modifiye dişeti indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p>0,05).

*A. actinomycetemcomitans* sayısı ile çürük indeksi, plak indeksi ve modifiye dişeti indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı (p>0,05).

*A. actinomycetemcomitans* JP2 klonu sayısı ile çürük indeksi, plak indeksi ve modifiye dişeti indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p>0,05).

*F. nucleatum* sayısı ile çürük indeksi ve modifiye dişeti indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı (p>0,05).

*F. nucleatum* sayısı ile plak indeksi arasında pozitif yönlü (plak indeksi arttıkça *F. nucleatum* sayısı da artan) %32,7 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (r: 0,327; p=0,039; p<0,05).

*S. wiggisae* sayısı ile çürük indeksi, plak indeksi ve modifiye dişeti indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p>0,05).

*P. gingivalis* sayısı ile çürük indeksi, plak indeksi ve modifiye dişeti indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı (p>0,05).

Total bakteri sayısı ile DMFT+dft ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p>0,05).

Total bakteri sayısı ile DMFS+dfs ölçümleri arasında pozitif yönlü (DMFS+ dfs arttıkça total bakteri sayısı artan) %38,3 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (r: 0,383; p=0,015; p<0,05).

Total bakteri sayısı ile plak indeksi arasında pozitif yönlü (plak indeksi arttıkça total bakteri sayısı da artan) %33,3 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu (r: 0,333; p=0,036; p<0,05).

Total bakteri sayısı ile gingival indeks arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p>0,05).

**Tablo 4-10: Tükürük örneklerinde hedef bakterilerin ve toplam bakteri sayısına göre indeks ölçümlerinin değerlendirilmesi**

		n	Çürük indeksi		Plak indeksi	Modifiye dişeti indeksi
			DMFT+ dft	DMFS+ dfs		
SM sayısı	r	39	0,422	0,461	0,194	0,135
	p		<b>0,007**</b>	<b>0,003**</b>	0,237	0,414
SMK sayısı	r	6	0,880	0,754	0,116	-0,088
	p		<b>0,021*</b>	0,084	0,827	0,868
AA sayısı	r	11	0,401	0,375	-0,083	-0,299
	p		0,222	0,255	0,808	0,372
JP2 sayısı	r	4	0,816	0,775	-0,544	0,001
	p		0,184	0,225	0,456	1,000
FN sayısı	r	40	0,135	0,212	0,327	0,133
	p		0,408	0,189	<b>0,039*</b>	0,413
SW sayısı	r	38	-0,083	-0,198	-0,293	-0,239
	p		0,620	0,234	0,074	0,148
PG sayısı	r	11	0,101	-0,150	0,325	0,342
	p		0,767	0,659	0,330	0,303
Total bakteri sayısı	r	40	0,262	0,383	0,333	0,246
	p		0,102	<b>0,015*</b>	<b>0,036*</b>	0,126

## 5. TARTIŞMA

Günümüzde, mobil ve oral mikrobiyomun genel sağlık açısından öneminin yüksek olduğu, oral mobil mikrobiyom ilişkisinin ise günümüz moleküler teknikleri ile ayrıntılı olarak açığa çıkarılması için çalışmaların yürütülmesinin gerekliliği sıklıkla vurgulanmaktadır. Oral bakterilerin sistemik etkilerine ilişkin çalışmaların genellikle yetişkinlerde gerçekleştirildiği, çocuklarda bu konuda yapılmış araştırmaların kısıtlı düzeyde olduğu gözlenmektedir. Bu bilgiler doğrultusunda, oral kavitede varlığı bilinen bazı patojenlerin mobil mikrobiyomdaki varlığının kalp hastası ve sağlıklı çocuklarda karşılaştırmalı olarak incelenmesi; oral mikrobiyomun hedef mikroorganizmalar olarak belirlenen *S. mutans*, *S. mutans* serotip k, *A. actinomycetemcomitans*, *A. actinomycetemcomitans* JP2 klon, *F. nucleatum*, *P. gingivalis* ve *S. wiggsiae* açısından değerlendirilmesi amacı ile bu çalışma gerçekleştirildi.

### 5.1. Gereç ve Yöntemin Değerlendirilmesi

#### 5.1.1. Çalışma Tasarımı

Bu çalışma vaka-kontrol çalışması olarak tasarlanmıştır.

Vaka kontrol çalışmaları belli özelliklere sahip hastalıklı bireylerin (vakalar) aynı özellikler açısından hasta olmayan bireylerle (kontroller) karşılaştırılması sonucunda incelenen özelliklerin vaka veya kontrol grubundaki sıklığının ve dağılımının incelenmesini amaçlar. Bu tür retrospektif araştırmalar hastalığın riskini hangi faktörlerin artırdığı veya azalttığına ilişkin bilgi verirler. Bu çalışma tasarımında sonuçtan yola çıkılarak nedeni tespit etme yolu izlenir (Dawson-Saunders ve Trapp 1990; Beaglehole ve ark. 1993; Cao ve ark. 2016).

Vaka grubu oluşturulurken, belirlenmiş bir zaman periodu süresince herhangi bir sağlık kurumuna başvuran ve hastalık tanısı konmuş kişilerden veya tanımlanmış bir genel toplumdaki tüm hasta kişilerden seçilebileceği belirtilmiş, birinci yöntemin çalışmalarda daha yaygın kullanılan ve daha ucuz bir vaka seçim yolu olduğu bildirilmiştir (Lui 2004).

**Bu tez çalışmasında vaka grubu, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı ve İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Kardiyolojisi Bilim Dalı'na başvuran, konjenital kalp hastalığı tanısı konmuş çocuklardan seçilmiştir.**

Kontrol grubunun oluşturulmasında, aynı hastaneye başka nedenlerle başvuranlardan, vakaların arkadaşları, akrabaları gibi sosyal çevresi arasından veya genel toplumdan seçilebileceği belirtilmiş; kontrol grubunun aynı hastaneden veya hasta grubunun sosyal çevresinden seçilmesinin ise sosyoekonomik eşitlemenin sağlanması açısından faydalı olacağı bildirilmiştir (Lui 2004).

**Bu tez çalışmasında kontrol grubu, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'na başvuran ve sistemik bir rahatsızlığı bulunmayan çocuklardan oluşturulmuştur.**

### **5.1.2. İndeks Ölçümleri**

Diş çürüklerinin epidemiyolojik olarak değerlendirilmesinde çalışmalarda yaygın olarak Dünya Sağlık Örgütü indeks sistemi (WHO, 1987) kullanılmakta, süt ve sürekli dişler dft, dfs, DMFT, DMFT indeksleri açısından değerlendirilmektedir. Bu çalışmada da, kalp hastası ve kontrol grubu çocukların diş sağlığı WHO kriterleri doğrultusunda incelenmiş ve dişler dft, dfs, DMFT, DMFT indekslerine göre değerlendirilmiştir.

Çalışmalarda ağız hijyeninin incelenmesinde farklı indekslerin uygulandığı görülmektedir. Greene ve Vermillion tarafından önerilen Basitleştirilmiş Ağız Hijyen İndeksi (1964) (G&V OHI-S plak indeksi), bireysel ağız hijyenini kantitatif olarak belirten bir yöntem olarak değerlendirilir. 16 ve 26 numaralı dişlerin bukkal, 11 ve 31 numaralı dişlerin labial, 36 ve 46 numaralı dişlerin lingual yüzeylerinin göz ve normal diş hekimliği sondası ile değerlendirildiği bu yöntem, toplum ağız diş sağlığının incelenmesinde epidemiyolojik bir araç olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Geleneksel Ağız Hijyen İndeksi (OHI)'ne göre daha kısa sürede eşit hassasiyette değerlendirme imkanı veren OHI-S plak indeksi basit ve hassas bir yöntem olarak tanımlanmakta, özellikle çocuklar ve engelliler gibi hassas popülasyonlarda yürütülen çalışmalarda sıklıkla tercih edilmektedir (Welbury ve ark. 2003; Rao ve ark. 2005; Shabani ve ark. 2015; Folayan ve ark. 2017; Mashima ve ark. 2017; Rajonson ve ark. 2017).

Karışık dişlenme dönemindeki çocuklarda kooperasyon eksikliği, süt dişlerinin ve periodonsiyumun morfolojisi, fizyolojik kök rezorpsiyonu sebebiyle mobilitesi bulunan dişler, düşen süt dişleri ve yeni sürmekte olan sürekli dişler gibi faktörlerden dolayı periodontal cep ölçümlerinin gerçekleştirilmesinde bazı zorluklar yaşanabileceği, hatalı ölçümler olabileceği belirtilmektedir (Sjodin ve Mattson 1992; Jensen ve ark. 2016).

Modifiye Dişeti İndeksi, Lobene ve ark. tarafından dişeti sağlığının ve enflamasyon derecesinin değerlendirilmesinde non-invaziv ve etkili bir yöntem olarak önerilmiştir. Periodontal sondalama işleminin kullanılmadığı bu yöntemde her diş için iki papilla ve iki dişeti kenarı değerlendirilerek elde edilen değerler toplanıp ortalaması alınmaktadır (Lobene ve ark. 1986).

Periodontal sondalama sırasında oral bakterilerin sistemik dolaşıma geçişi ve bakteremi riski olabileceği bilinmektedir. Daly ve ark. sondalama sonrası bakteremi oluşma sıklığının periodontitisli hastalarda %40, gingivitisli hastalarda %10 olduğunu belirtmiştir (Daly ve ark. 1997; 2001). Özellikle kalp hastası çocuklarda gerçekleştirilen çalışmalarda Modifiye Dişeti İndeksi'nin yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir (Rai ve Hegde 2009; Mathias ve ark. 2011; Hedge ve ark. 2012).

**Bu tez çalışmasında, kalp hastası ve kontrol grubu çocukların ağız hijyeninin değerlendirilmesinde epidemiyolojik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan Basitleştirilmiş Ağız Hijyen İndeksi (OHI-S)'nin kullanılması; kalp hastası ve kontrol grubu çocuklarda dişeti sağlığının ve enflamasyon varlığının değerlendirilmesinde ise olası bakteremi riskini ortadan kaldırılması ve karışık dişlenme dönemindeki hasta grubunda cep ölçümlerinin hatalı sonuç verebilmesi nedenleri ile non-invaziv bir yöntem olan Modifiye Dişeti İndeksi tercih edilmiştir.**

### **5.1.3. Tükürük Örneklerinin Elde Edilmesi**

Tükürük mikrobiyotasının tükürükle doğrudan temas halinde olan çeşitli oral yüzeylerden dökülen bakterilerden oluşur ve 1ml'sinin 100 milyondan fazla bakteri içerdiği belirtilmiştir (Curtis ve ark. 2011). Tükürük mikrobiyotasının özellikle dilin dorsal ve yan yüzeyleri, boğaz ve tonsillalar ile benzer olduğu, bilinen periodontal patojenlerden birçoğunun ise tükürükte supra ve subgingival diş yüzeylerindeki benzer DNA yüzdesine sahip oldukları bildirilmiştir (Kulekci ve ark. 2008; Segata ve ark. 2013).



Tükürük, invaziv olmaması, hızlı ve emniyetli toplanması, kolay taşınması ve depolanabilmesi ve ucuz olması sebebiyle ağız sağlığı ve hastalığı ile ilişkili biyolojik belirteçlerin araştırılmasında tercih edilen bir yöntemdir (Giannobile ve ark. 2011; Belström ve ark. 2016). Kulekci ve ark. periodontal olarak sağlıklı çocuklarda periopatojenik bakterilerin incelenmesi amacı ile tükürük örneklerinde gerçekleştirdikleri çalışmada, tükürük analiz yönteminin özellikle çocuk hastalarda hızlı ve kolay bir yöntem olduğunu ve tükürüğün tüm ağız içi mikrobiyotasını yansıttığını belirtmişlerdir (Kulekci ve ark. 2008).

Uyarılmış tükürük örneklerinin toplanmasının uyarılmamış tükürük örneklerine göre daha hızlı ve hasta açısından daha konforlu olduğu için, büyük popülasyonların taranacağı çalışmalarda daha avantajlı olabileceği bildirilmektedir. Bununla birlikte, uyarılmış tükürük örneklerinin analizinde uyarılmamış tükürük örneklerine oranla proteomik bileşenlerin seyreltilmiş olduğunun vurgulanması nedeni ile proteomik analizlerde uyarılmamış tükürük tercih edildiği görülmektedir (Schafer ve ark. 2014; Yakob ve ark. 2014).

**Bu tez çalışmasında, kalp hastası ve kontrol grubunda tükürüğün mikrobiyolojik analizi, uygulama kolaylığı ve çocukların oral mikrobiyomunu başarıyla yansıtabilmesi açısından stimüle edilmemiş tükürük örneklerinde gerçekleştirilmiştir.**

#### **5.1.4. Kan Örneklerinin Elde Edilmesi**

Kan örneklerinin toplanmasında farklı yöntemlerin uygulandığı görülmektedir. Kan alımı sırasında cilt dezenfeksiyonu işleminin cildin bakteriyel yükünü azalttığı, ancak yağ bezlerinde ve kıl köklerinde bulunan mikroorganizmaların erişilememesi nedeniyle steril bir damar girişinin garanti edilemeyeceği belirtilmektedir (Lee ve ark. 2002; Brecher ve Hay, 2005). Araştırmacılar intravenöz girişim sırasında cilt yüzeyinde bulunan bakterilerden kan dolaşımına eksojen bakteriyel genom geçişi olabileceğini, 21-gauge bir iğnenin dış çapı 0.80 mm, delinen cilt alanının  $5 \times 10^5 \mu\text{m}^2$  olarak hesaplandığını, bir bakterinin çapının ise yaklaşık  $2 \mu\text{m}$  olduğu ve teorik olarak  $1 \times 10^5$  bakterinin bu alana tek tabaka olarak yapışarak kan dolaşımına veya venöz kan örneklerine geçiş yapabileceğini bildirmektedir (Moriyama ve ark. 2008).

Kan bağışı sırasında kan örneklerinin değerlendirilmesi sonucunda, kan örneklerine cilt kontaminantlarının bulaşmasını engellemek için ilk alınan 10-30 ml kanın atılması önerildiği görülmektedir. Hollanda'da Kızılhaç tarafından 22.000 kan örneği ile yapılan çalışmada, ilk 10 ml donör kan birincil torbadan ayrılmış, ilk 5 ml'lik kısım analiz edildiğinde 16 örnekte, ikinci 5ml'lik kısım analiz edildiğinde ise yalnızca iki örnekte bakteri kontaminasyonu saptandığı belirtilmiştir (De Korte ve ark. 2002). Fransa'da yapılan bir diğer araştırmada, kan alımı sırasında ilk 10 ml donör kanının ayrılması sonucu %0,39 olan bakteri kontaminasyonunu %0,21'e düşüğünü bildirilmiştir (Bruneau ve ark. 2001). Sonbol ve ark. genel anestezi altında tedavi edilen çocuklarda dental işlemler sonrası bakteremi varlığını araştırdıkları çalışmalarında venöz kan alımında cilt kontaminasyonunu elimine etmek amacıyla vene girildikten sonra alınan ilk 0,5 ml kanın atılarak, yeni bir şırınga ile tekrardan kan alınmasını önermişlerdir (Sonbol ve ark. 2009).

Venöz kan alımlarında cilt yüzeyinin dezenfeksiyonu için için %70 izopropil alkol ardından %2'lik iyodin solüsyonu, yeşil sabun ve ardından %70 izopropil alkol, %0,5 klorheksidin glukonat ve ardından %70 izopropil alkol uygulamalarının etkinliği standart povidon-iyodin uygulaması ile karşılaştırılmış, ve cilt yüzeyinin izopropil alkol ardından iyodin solüsyonu ile silinmesinin diğer yöntemlere göre daha etkili olduğu bildirilmiştir (Goldman ve ark. 1997; Lee ve ark. 2002).

McDonald ve ark. venöz kan alımlarında cilt dezenfeksiyonu amacıyla cilt yüzeyinin 30 saniye %70 izopropil alkol ile silindikten sonra %2'lik iyodin solüsyonunun 30 saniye süreyle aşağı yukarı şekilde uygulandığı Uyarlanmış Medi-Flex yöntemin en iyi dezenfeksiyonu sağlayan yöntem olduğunu, cilt yüzeyindeki bakteri sayısında %99,79'luk bir azalma sağladığını ve dezenfeksiyon sonrası vericilerin %70'inde bakteri sayımının sıfır, %98'inde ise 10 veya daha az olduğunu bildirilmişlerdir. Aynı çalışmada %70 izopropil alkol sonrası %2'lik iyodin solüsyonunun merkezden dışa doğru dairesel hareketlerle uygulandığı standart Medi-Flex yöntemi ile yukarı aşağı boyama hareketleri ile uygulandığı Uyarlanmış Medi-Flex yöntemi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmamakla birlikte, Uyarlanmış Medi-Flex yönteminin çalışmada daha başarılı bulunduğu, bunun sebebinin de standart yöntemde iğne giriş bölgesini tekrardan kontamine etmemek amacıyla tek bir kez merkezden dışa doğru dairesel hareketlerle uygulama sırasında, cilt yüzeyine yeterli

miktarda dezenfektan uygulanamamasına bağlı olabileceği bildirilmiştir (McDonald ve ark. 2001).

Schmidt ve ark. Uyarlanmış Medi-Flex yönteminin cilt dezenfeksiyonunda en etkili yöntem olmakla birlikte cilt kontaminasyonunu %100 ortadan kaldıramadığını belirtmişlerdir (Schmidt ve ark. 2005).

**Bu tez çalışmasında, venöz kan alımı sırasında cilt kontaminasyonunun engellenmesi amacıyla cilt yüzeyi 30 saniye %70 izopropil alkol ile silindikten sonra %2'lik iyodin solüsyonunun 30 saniye süreyle silinerek Uyarlanmış Medi-Flex cilt dezenfeksiyonu yöntemi uygulanmış, ancak hasta ve kontrol grubundaki çocukların yaşlarının küçük olması ve kan alımında çocuklarda yaşanan kooperasyon güçlüğü göz önünde bulundurularak alınan ilk kan örneğinin elimine edilerek ikinci bir tüp kan alınması yöntemi uygulanamamıştır.**

Laboratuvar analizlerinde kullanılacak kan örneklerinin alımında farklı antikoagülanların kullanıldığı görülmektedir. Norgen's Blood Genomic DNA Isolation Mini Kit ile yapılan genomik analizlerde antikoagülan olarak EDTA, sodyum sitrat ve heparin içeren kan örnekleri kullanılmış ve DNA bütünlüğü, saflığı ve qPCR performansı açısından üç antikoagülan arasında anlamlı bir farklılık olmadığı bildirilmiştir ([www.norgenbiotek.com](http://www.norgenbiotek.com)).

Lam ve ark. plazma DNA analizlerinde üç farklı antikoagülanın etkisinin karşılaştırmış, EDTA'lı tüplerde saklanan numunelerde DNA veriminin sodyum sitrat ve heparinli tüplerde saklanana göre anlamlı derecede yüksek olduğunu, EDTA'nın genomik analizlerde antikoagülan olarak ilk tercih olması gerektiğini bildirmişlerdir (Lam ve ark. 2004).

**Bu tez çalışmasında venöz kan alımları 2 ml'lik antikoagülan içeriği EDTA olan Vacutainer® tüpler ile gerçekleştirilmiştir.**

### **5.1.5. Tükürük ve Kan Örneklerinin Oral ve Mobil Mikrobiyom Açısından İncelenmesi**

Bakteriyel tanımlama ve miktar tayini için kültürden bağımsız moleküler tekniklerin kullanılmaya başlanması, oral mikrobiyomun daha net ve detaylı bir şekilde tanımlanmasında büyük önem taşımaktadır. 16SrRNA dizi bazlı analizler, kültür

ortamında yetiştirilemediği için tespiti yapılamayan veya geleneksel kültür temelli yaklaşımlarla ayırt edilmesi zor olan, benzer fenotipik özelliklere sahip yakın ilişkili türlerin saptanmasında ve ayırt edilmesinde kullanılabilir. Şimdiye kadar insan ağız boşluğundan yaklaşık 260 bakteri kültür edilmiştir fakat gerçek mikrobiyomun yaklaşık 500 türden oluştuğu tahmin edilmektedir. Paster ve ark. tarafından subgingival plaktan izole edilmiş 2.522 DNA klonuyla yapılan önemli bir 16S rDNA sekanslama çalışmasında ve daha ufak ölçekli benzer çalışmalarda, toplam 500'ün üzerinde insan oral bakteri türü veya henüz kültür edilememiş filotip saptanmıştır (Kroes ve ark. 1999; Spratt ve ark. 1999; Sakamoto ve ark. 2000; Paster ve ark. 2001; Becker ve ark. 2002; Ling ve ark 2010).

qPCR (Kantitatif PCR, Real Time PCR) DNA ve RNA örneklerinin kantitatif olarak kısa sürede analiz edilmesine, çok sayıda örnekle daha az kontaminasyon riskiyle çalışılabilmesine imkan sağlamaktadır. Çevresel kontaminasyon ve çapraz kontaminasyon riskini en aza indirgeyen qPCR analizinde, işlem basamakları geleneksel PCR'a göre daha az olduğu için testi gerçekleştiren kişiden kaynaklanan hata olasılıkları da azalmaktadır (Kayha ve ark. 2013).

qPCR ile amplifikasyon sırasında örnekteki DNA miktarı ne kadar yüksekse, floresan sinyalin o kadar çabuk eşik seviyeye ulaşması, başlangıç DNA seviyesi çok az olsa bile bu miktarın tayinini mümkün kılmaktadır. Başlangıç DNA miktarından bağımsız olarak sayede pozitif ve negatif sonuç veren geleneksel PCR'da ise DNA miktar tayini oldukça güçtür (Valasek ve Repa 2005; Raymaekers ve ark. 2009).

Nadkarni ve ark. in-vitro yapay örnekler ve çürük dentin üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmanın sonucunda, qPCR analizi ile bakteri kültürü sonucu elde edilen toplam bakteri sayısının 40 katı bakteri miktarı tespit edildiğini bildirmişler ve ağız boşluğundaki bakterilerin analizinde qPCR'ın önemini vurgulamışlardır (Nadkarni ve ark. 2002).

Nonnenmacher ve ark. periodontal patojenlerin tayininde qPCR'ın geleneksel yöntemlerle karşılaştırıldığında çok daha kapsamlı sonuçlar verdiğini belirtmişlerdir (Nonnenmacher ve ark. 2005).

**Bu tez çalışmasında, kalp hastası ve kontrol grubu çocukların oral ve mobil mikrobiyomunun incelenmesinde ve hedef bakterilerin varlık ve miktar tayininde,**

**çok düşük miktarlarda bakteriyel DNA'nın bile tespit edilebilmesi, analizler sırasında çapraz ve çevresel kontaminasyon riskinin daha düşük olması ve bakteri filotiplerinin daha büyük bir kesinlikle saptanması amacıyla qPCR analizi tercih edilmiştir.**

Mobil mikrobiyom tanımını ilk olarak yapan araştırmacılar olan Han ve Wang *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Rothia dentocariosa*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*'nın ağız dışı bölgelerden en sık izole edilen ve mobil mikrobiyomla ilişkilendirilen bakteriler arasında olduğunu belirtmişlerdir (Han ve Wang 2013).

Mukherjee ve ark. periodontal patojenlerden olan *Fusobacterium* ve *Porphyromonas* cinsi bakterilerin ağız boşluğundan kaynaklı mobil mikrobiyomun temel unsurlarından olduğunu ve oral skuamöz hücreli karsinomda rol aldıklarını bildirmişlerdir (Mukherjee ve ark. 2017).

Brouqui ve Raoult 399 endokardit vakasında etken bakterileri araştırdıkları çalışmanın sonucunda 93 vakada *A. actinomycetemcomitans*'ın izole edildiğini, HACEK grubu bakteriler arasında endokarditten sorumlu 2. en sık rastlanan etken olduğunu belirtmişlerdir (Brouqui ve Raoult 2001).

Mai ve ark. mobil mikrobiyomun ağız dışı bölgelerde kolonize olabildiğini, sitokin benzeri biyokaktif komponentlerinin yaygın sistemik enflamasyona sebep olduğunu, periodontitisin sigara ile birlikte akciğer kanseri riskini arttırdığını bildirmişler ve sistemik dolaşımdaki periodontal patojen bakterilerin önemine dikkat çekmişlerdir (Mai ve ark. 2014).

Nakano ve ark. 203 kalp hastasından alınan kalp dokusu örneklerinde oral bakterilerin varlığını PCR yöntemi ile analiz etmişler ve kalp kapağı örneklerinin %80, aort anevrizması örneklerinin %90'ında birden fazla oral bakteri saptandığını bildirmişlerdir. *S. mutans*'ın kalp kapaklarında %42,7, anevrizma duvarlarında %62,8 ile en fazla izole edilen bakteri olduğu, *A. actinomycetemcomitans* 'ın sırasıyla %35 ve %30,2 ile ikinci en yoğun rastlanan bakteri olduğu, *S. sanguinis*, *P. gingivalis*, ve *T. denticola* 'nın ise %15-20 arası değerlerde izole edildiği belirtilmiştir (Nakano ve ark.

2009a). *S. mutans* 'ın da kardiyak örneklerde ve infektif endokardit vakalarında kanda en sık izole edilen streptokok olduğu pek çok çalışmada bildirilmiştir (Fujiwara ve ark. 2001; Nomura ve ark. 2006; Nakano ve ark. 2007).

Literatürde *A. Actinomycetemcomitans* 'ın yüksek lokötoksik JP2 klonunun kolonizasyonunda çoğunlukla bir yaş ayrımı olduğu, daha sıklıkla genç bireylerden izole edildiğini belirten pek çok çalışma vardır (Haraszthy ve ark. 2000; Cortelli ve ark. 2005; Ennibi ve ark. 2012). JP2 klonunun 14 yaşın altındaki bireylerde daha yaygın olduğu, daha ileri yaştaki bireylerde ise tespit edilemediği veya subgingival mikrobiyotada çok düşük seviyede saptandığı bildirilmiştir (Haraszthy ve ark. 2000; Guthmiller ve ark. 2001).

Lucchese *S. mutans* 'ın yüzey antijenleri I/II'nin insan kardiyovasküler otoantijenlerinin peptitleri ile büyük oranda ortak olduğu için mobil mikrobiyomdaki *S. mutans* 'ın otoimmün çapraz reaksiyonlara sebep olarak otoimmün kardiyovasküler hastalıklarda etkin olduğunu bildirmiştir (Lucchese 2017).

Nakano ve ark. *S. mutans* serotip *k* 'nın subakut endokardit hastalarında ve sağlıklı bireylerin dental plak örneklerinde izole edilme sıklığını karşılaştırmışlar; *S. mutans* serotip *k* 'nın subakut endokardit hastalarının plak örneklerinde (%75) sağlıklı bireylere göre (%20) anlamlı derecede daha yüksek oranda izole edildiğini belirtmişlerdir (Nakano ve ark. 2007b).

*S. mutans* serotip *k* suşlarının kalp hastalıklarıyla ilişkilendirildiği pek çok çalışma vardır. Serotip *k* suşlarının glikoz yan zincirindeki belirgin azalma sebebiyle fagositoza daha az duyarlı olduğu, bu sebeple sistemik dolaşıma geçerek kalp dokusuna yerleşmelerinin daha kolay olabileceği belirtilmiştir (Fujiwara ve ark. 2001; Nakano ve ark. 2004a). Nakano ve Ooshima, kardiyovasküler doku örneklerinde *S. mutans* serotip *k* DNA 'sının sıklıkla izole edildiğini bildirmişler ve serotip *k* 'nın sistemik hastalıklarda yüksek virülans seviyesine sahip olduğunu belirtmişlerdir (Nakano ve Ooshima 2009).

Yakın zamanda tanımlanan *S. wiggsiae* 'nın *S. mutans* 'ın varlığında veya yokluğunda başta erken çocukluk çağı çürükleri olmak üzere, başlangıç ve ileri çürük lezyonları ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (Kressirer ve ark. 2017; Unsal ve ark. 2017). Literatürde *S. wiggsiae* 'nin kalp hastası çocuklarda oral mikrobiyomdaki varlığı

ve rolüyle ilgili henüz bir çalışma olmadığı, Türkiye’de sağlıklı çocuklarda gerçekleştirilen sadece bir çalışma olduğu görülmektedir (Unsal ve ark. 2017).

**Bu veriler ışığında, bu tez çalışmasında kalp hastası ve kontrol grubu çocukların tükürük örneklerinden izole edilecek hedef bakteriler olarak, mobil mikrobiyomla en sık ilişkilendirilen bakterilerden *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans*, özellikle kalp hastalıkları ile ilişkilendirilen *S. mutans* serotip *k*, yüksek lökotoksin aktivitesine sahip olduğu bilinen, çoğunlukla 14 yaş altındaki bireylerde izole edilen ve agresif periodontitis ile ilişkilendirilen *A. actinomycetemcomitans* JP2 klonu ve yeni tanınlanmış, henüz kalp hastası çocukların oral mikrobiyomunda ilk defa araştırılacak bir bakteri olan *S. wiggsiae* seçilmiştir.**

## 5.2. Bulguların Değerlendirilmesi

### 5.2.1. Çürük İndeksinin Değerlendirilmesi

Kalp hastası çocuklarda diş çürüğü sıklığına ilişkin olarak gerçekleştirilmiş çalışmalarda bulguların kontrol grubuna göre daha az yada daha yüksek olarak elde edildiği bildirilmektedir.

al-Sharheed ve ark. kardiyak transplant hastalarında DMFS değerini  $4.3 \pm 7.4$ , DMFT değerini  $1.9 \pm 2.8$ ; kontrol grubunda sırasıyla  $5.9 \pm 9.0$ ,  $2.8 \pm 3.7$ ; transplant grubunda dft değerini  $1.3 \pm 2.9$ , dfs değerini  $3.1 \pm 8.2$ , kontrol grubunda  $1.3 \pm 2.2$  ve  $2.4 \pm 6.2$  olarak bulmuşlar, iki grup arasında çürük indeks değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmadığını belirtmişlerdir (al-Sharheed ve ark. 2000)

da Silva ve ark. kalp hastası çocuklarda dft değerini  $2.62 \pm 2.98$ , DMFT değerini  $3.97 \pm 4.10$  olarak saptamışlardır (da Silva ve ark. 2002).

Stecksén-Blicks ve ark. kalp hastası çocuklarda dfs değerini  $5.2 \pm 7.0$ , kontrol grubunda  $2.2 \pm 3.5$ ; kalp hastalarında DMFS değerini  $0.9 \pm 1.9$ ; kontrol grubunda  $0.3 \pm 0.5$  olarak bildirmişlerdir (Stecksén-Blicks ve ark. 2004).

Talebi ve ark. kalp hastası çocuklarda dft değerini  $3.7 \pm 4.00$ , kontrol grubunda  $3.5 \pm 3.3$ ; kalp hastalarında DMFT değerini  $1.79 \pm 2.52$ , kontrol grubunda  $1.47 \pm 1.7$  olarak

belirtmişler, iki grup arasında çürük indeks değerleri arasında anlamlı bir farklılık saptanmadığını belirtmişlerdir (Talebi ve ark. 2007).

Tasioula ve ark. kalp hastası çocuklarda dft değerini  $1.57\pm 3.01$ , kontrol grubunda  $1.81\pm 3.64$ ; kalp hastalarında DMFT değerini  $0.77\pm 1.42$ , kontrol grubunda  $0.38\pm 1.16$  olarak bulmuşlar, iki grup arasında çürük indeks değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmadığını bildirmişlerdir (Tasioula ve ark. 2008).

Zafar, kalp hastası çocuklarda dft değerini  $3.7\pm 4.3$ , kontrol grubunda  $3.4\pm 4.0$ ; kalp hastalarında DMFT değerini  $0.6\pm 1.3$ , kontrol grubunda  $0.6\pm 1.3$  olarak bildirmiş, iki grup arasında çürük indeks değerleri açısından anlamlı bir farklılık bulunmadığını belirtmiştir (Zafar 2008).

da Fonseca ve ark. kalp hastası çocuklarda dft değerini  $1.03\pm 1.85$ , kontrol grubunda  $1.23\pm 2.54$  olarak saptamış, iki grup arasında dft değerleri arasında anlamlı farklılık bulunmadığını belirtmişlerdir (da Fonseca ve ark. 2009).

Bozdoğan ve ark. kalp hastası çocuklarda gerçekleştirdikleri çalışmada 12 yaşından küçüklerde dft değerini  $7.07\pm 4.62$ , dfs değerini  $17\pm 9.23$ , DMFT değerini  $1.48\pm 1.78$ , DMFS değerini  $2.10\pm 2.76$ ; 12 yaşından büyük çocuklarda DMFT değerini  $5.27\pm 4.29$ , DMFS değerini  $12.54\pm 8.30$  olarak bildirmişlerdir (Bozdoğan ve ark. 2010).

Balmer ve ark. kalp hastası çocuklarda dft değerini  $2.43\pm 3.72$ , kontrol grubunda  $1.36\pm 2.5$ , kalp hastalarında DMFT değerini  $1.5\pm 1.73$  kontrol grubunda  $1.15\pm 1.42$  olarak bulunduğunu bildirmişlerdir (Balmer ve ark. 2010).

Bozdoğan ve ark. kalp hastası çocuklarda dft değerini  $5.48\pm 5.22$ , dfs değerini  $9.69\pm 9.72$ , DMFT değerini  $2.23\pm 2.65$ , DMFS değerini  $3.53\pm 4.71$ ; kontrol grubunda dft değerini  $6.17\pm 2.97$ , dfs değerini  $11.65\pm 5.51$ , DMFT değerini  $1.38\pm 1.50$ , DMFS değerini  $2.23\pm 2.58$  olarak saptadığını; iki grup arasında çürük indeks değerleri açısından anlamlı farklılıklar bulunmadığını belirtmişlerdir (Bozdoğan ve ark. 2016).

Mohammed Ali ve ark. 3-12 yaşları arasında 80 kalp hastası ve 80 sağlıklı çocukta gerçekleştirdikleri çalışmada dft değerini kalp hastası çocuklarda  $4.1 \pm 3.9$ , kontrol grubunda  $2.3 \pm 2.9$ , DMFT değerini kalp hastası grupta  $1.4 \pm 1.8$ , kontrol grubunda ise  $0.7 \pm 1.1$  olarak bildirmişler, kalp hastası grubun çürük indekslerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu belirtmişlerdir (Mohammed Ali ve ark. 2017).

**Bu tez çalışmasında ortalama DMFT, DMFS, dft, dfs değerleri kalp hastası çocuklarda sırasıyla  $2.85\pm 2.18$ ,  $5.55\pm 5.22$ ,  $4.10\pm 3.55$ ,  $11.35\pm 11.37$ ,  $6.95\pm 3.82$ ,**



16,90±11,93 olarak, kontrol grubu çocuklarda ise 5,20±3,87, 10,15±8,59, 4,50±4,37, 12,55±13,20, 9,70±4,38, 22,70±13,05 olarak saptanmıştır.

Kalp hastası grubun DMFT ve DMFS değerleri kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ( $p=0,036$  ve  $p=0,045$ ;  $p<0,05$ ). Her iki grubun dft ve dfs ölçümleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık ( $p>0,05$ ) saptanmamıştır.

DMFT+dft değeri kalp hastası çocuklarda 6,95±3,82, kontrol grubunda 9,70±4,38, DMFS+dfs değeri kalp hastası grupta 16,90±11,93, kontrol grubunda 22,70±13,05 olarak saptanmıştır. İki grup arasında çürük indeksi değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir.

İstatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmama ile birlikte kontrol grubundaki çocukların çürük indeks değerlerinin kalp hastası gruptan yüksek olması dikkat çekicidir. Konjenital kalp hastalığı bulunan çocukların ailelerinin, düzenli kardiyoloji takipleri sırasında infektif endokardit riski açısından ağız sağlığının önemi konusunda bilgilendirildikleri bilinmektedir. Kalp hastası grupta çürük indekslerinin kontrol grubundan düşük olmasının, ailelerin çocuklarının ağız hijyeni konusunda erken yaşlardan itibaren bilinçlendirilmiş olması ile ilişkilendirilebileceği düşünülmüştür.

### **5.2.2. Kalp Hastası ve Kontrol Grubu Çocuklarda Plak İndeksi ve Modifiye Dişeti İndeksi Bulgularının Değerlendirilmesi**

Talebi ve ark. 2-12 yaş arası kalp hastası 100 çocuk ve sağlıklı 50 çocuk ile gerçekleştirdikleri çalışmada “Basitleştirilmiş Debris İndeksi” (DI-S) değerlerini incelemişler, kalp hastası grupta 0,42±0,45, kontrol grubunda ise 0,23±0,34 olduğunu, kalp hastası çocukların ağız hijyeninin kontrol grubu çocuklara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede kötü olduğunu bildirmişlerdir (Talebi ve ark. 2007).

Steelman ve ark. kalp hastalığı bulunan 2,5-10 yaş arası 12 çocuk ve sağlıklı 2-13 yaş arası 12 çocuk ile gerçekleştirdikleri çalışmada dişeti sağlığını değerlendirmek için Massler indeksini kullanmışlar ve modifiye dişeti indeksinin kalp hastası çocuklarda 6,5, kontrol grubunda 6,4 olduğunu, kalp hastası ve kontrol grubu çocukların dişeti enflamasyon dereceleri arasında anlamlı farklılık bulunmadığını belirtmişlerdir (Steelman ve ark. 2003).

Zafar ve ark. 2-12 yaş arası 66 kalp hastası ve kontrol grubunu oluşturan 66 sağlıklı çocuğun ağız sağlığını değerlendirdikleri çalışmada kalp hastası grupta plak skorununun %63,6, kontrol grubunda ise %45,5 olduğunu ancak iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığını, dişetinde enflamasyon varlığının ise kalp hastası grupta (%25,8) kontrol grubuna (%10,6) oranla anlamlı derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Zafar ve ark. 2008).

Mohammed Ali ve ark. 3-12 yaşları arasında 80 kalp hastası ve 80 sağlıklı çocuk üzerinde, basitleştirilmiş dişeti indeksi ve basitleştirilmiş plak indeksi kullanarak gerçekleştirdikleri çalışmada dişeti indeksini kalp hastası çocuklarda  $4,2\pm 2,3$ , kontrol grubunda ise  $2,0\pm 1,9$  olarak, plak indeksini ise kalp hastası grupta  $4,9\pm 1,7$ , kontrol grubunda ise  $3,8\pm 1,9$  olarak bildirmişler, kalp hastası grubun dişeti indekslerinin ve plak indekslerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu belirtmişlerdir. (Mohammed Ali ve ark. 2017).

Bozdoğan ve ark. 3-12 yaş aralığında 25 kalp hastası ve 25 sağlıklı çocuk ile gerçekleştirdiği çalışmada, plak indeksinin kalp hastası çocuklarda  $0,71\pm 0,30$ , kontrol grubunda  $0,78\pm 0,35$ , dişeti indeksinin ise kalp hastası çocuklarda  $0,10\pm 0,10$ , kontrol grubunda  $0,15\pm 0,16$  olduğunu; kalp hastası ve kontrol grubun çocuklarda plak indeksi ve dişeti indeksi değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmadığını belirtmişlerdir (Bozdogan ve ark. 2016).

**Bu tez çalışmasında plak indeksi kalp hastası çocuklarda  $1,24\pm 0,84$ , kontrol grubunda  $1,47\pm 0,72$ , modifiye dişeti indeksi kalp hastası çocuklarda  $1,07\pm 0,47$ , kontrol grubunda  $0,77\pm 0,48$  olarak saptanmıştır. İki grup arasında plak indeksleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ). Modifiye dişeti indeksleri değerlendirildiğinde ise kalp hastası grubun modifiye dişeti indeksleri kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksek ( $p=0,023$ ;  $p<0,05$ ) bulunmuştur.**

### **5.2.3. Kalp Hastası ve Kontrol Grubu Çocuklarda Mobil Mikrobiyomun Değerlendirilmesi**

PCR sonrası herhangi bir kan örneğinde çıkan pozitif sonuç, tüpün en az bir kopya rDNA içerdiği anlamına gelir. Başka bir deyişle 10 µL başlangıç materyali (ham kan), rDNA'nın en az bir kopyasını (100 kopya / mL) içerir. Bir bakteri hücresinin 10

çoğaltılmış rDNA genine sahip olduğu göz önüne alındığında, PCR sonucu pozitif çıkan kan, 1 mL'de 10 bakteri hücresine sahiptir. Bu yoğunlukta bir bakteremi varlığının patolojik bir duruma işaret edeceği gerçeğinden yola çıkarak, sağlıklı bireylerin kanında bakteriyel bir bileşen bulunması durumunda, rDNA'nın canlı olmayan bakteri kaynaklı olabileceği ihtimali göz önünde bulundurulmalıdır. Bakterilerin fiziksel ve immünolojik savunma mekanizmaları tarafından yok edilmelerinin ardından salınan rDNA'nın kan dolaşımına translokasyonu sonrası bu bakteriyel rDNA plazmada serbestçe ve / veya granüositler tarafından sindirilmiş halde bulunabilir (Moriyama ve ark. 2008).

Nikkari ve ark. 2001 yılında gerçekleştirdikleri çalışmada sağlıklı bireylerden aldıkları kan örneklerinde bakteriyel 16S rDNA varlığı tespit edildiğini, ancak bu bakterilerin kesin orijininin tespit edilemediği için deri kontaminantı olma ihtimalini de göz önünde bulundurulması gerektiğini belirtmişlerdir (Nikkari ve ark. 2001).

Rajendhran ve ark. konjenital kalp hastası ve sağlıklı bireylerin kan dolaşımında yeni nesil sekanslama yöntemleriyle tespit edilen bakteri topluluklarını karşılaştırmışlar ve kontrol grubunda *Proteobacteria* (~%60) ve *Firmicutes* (~%35) popülasyonunun dengede olduğunu, konjenital kalp hastası grupta bu dengenin bozulmuş ve *Proteobacteria*'nın dominant olduğu (*Proteobacteria* >%90, *Firmicutes* <%10) bildirmişlerdir. *Actinobacteria* konjenital kalp hastası grupta %2,1, sağlıklı kontrol grubunda %2 oranında gözlenirken, *Bacteroidetes* ailesi kalp hastası grupta %0,1, kontrol grubunda ise %0,7 olarak saptandığı belirtilmiştir. Bakteri taksonları açısından incelendiğinde *Pseudomonadaceae* ailesinin kalp hastası grupta (% 23), kontrol grubuna (% 8,9) göre daha yüksek yoğunlukta saptandığını bildirilmiştir. *Bacillales* ve *Staphylococcaceae* ailesi kontrol grubunda sırasıyla % 14,4 ve % 27 oranında tespit edilirken kalp hastası grupta bu organizmaların önemli miktarda azalmış olduğu gözlenmiştir (sırasıyla <0,1 ve <%0,6). *Enterobacteriaceae* ailesi her iki grupta da eşit oranda gözlendiğini (%20), kalp hastası grupta %1,5 oranında saptanan *Oxalobacteraceae* ailesine ise sağlıklı kontrol grubunda rastlanmadığı bildirilmiştir. *Comamonadaceae* ve *Burkholderiaceae* aileleri konjenital kalp hastalığı bulunan grupta sırasıyla % 9,26 ve % 3,42 oranında, kontrol grubunda ise belirgin olarak daha düşük oranda (% 2,9 ve % 0,8) izole edilmiştir (Rajendhran ve ark. 2013).

Paissé ve ark. metagenomik analiz ile sağlıklı bireylerde "kan mikrobiyomu"nu araştırmışlar ve kan örneklerinden izole edilen bakteriyel DNA'ların çoğunlukla

Proteobacteria filumuna (%80) ait olmakle beraber Actinobacteria, Firmicutes ve Bacteroidetes ailesinden olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca tespit edilen bakteriyel DNA'ların %93,74'ünün lökosit ve trombositlerin oluşturduğu "buffy coat" tabakasından, %6,23'ünün eritrositlerden ve %0,03'ünün plazmadan izole edildiğini belirtmişlerdir (Païssé ve ark. 2016).

Vieira ve ark. diş çürüğü bulunan 174 çocuk ve erişkinden alınan periferik kan örneklerinde *S. mutans* varlığını qPCR analizleri ile araştırmışlar, ancak hiçbir örnekte *S. mutans*'a ait genomik DNA saptanamadığını bildirmişlerdir. Bu durumun DNA ekstraksiyonu için kullanılan yöntemden veya kan örneklerindeki *S. mutans* seviyesinin çok düşük olmasından ve qPCR'ın hassasiyetinin altında kalmasından kaynaklanabileceği öne sürülmüştür (Vieira ve ark. 2011).

**Bu tez çalışmasında, kalp hastası ve kontrol grubu çocuklardan alınan venöz kan örneklerinin qPCR analizi sonucunda, her iki gruptan alınan tüm plazma örneklerinden ışına alınmış ve biri kontrol grubu, biri de kalp hastası gruptan olmak üzere iki plazma örneğinde yüksek güvenilirlikle bakteri DNA'sı tespit edilmiştir. Diğer tüm örneklerde ise 1-12 kopya arasında değişen düşük değerlerde DNA miktarı hesaplanmıştır. Düşük miktarda tespit edilen ışımının DNA izolasyonu veya qPCR çalışmaları sırasında veya kullanılan kimyasalların üretimindeki bakteri rDNA kontaminasyonundan kaynaklanmış olabileceği dikkate alındığında, düşük miktarda bakteri DNA'sı tespit edilen örneklerin sonuçlarının hatalı pozitif olduğu düşünülmektedir. Bu durum literatürde de bildirilmiş olup, Nadkarni ve ark. (2002) aynı primerlerle yaptıkları çalışmada kontaminasyondan kaynaklanabilen hatalı pozitif limitinin kullanılan kimyasallara göre değişkenlik göstermekle birlikte 48 kopya sayısına kadar çıkabildiğini bildirmişlerdir. Ayrıca hastalardan kan alımı sırasında her ne kadar cilt dezenfeksiyon işlemleri gerçekleştirilse de, örneklerde tespit edilen bakteriyel DNA'ların cilt kontaminasyonu kaynaklı olabileceği ihtimali de göz ardı edilemez. Bu bilgiler doğrultusunda, kalp hastası grupta bir, kontrol grubunda bir olmak üzere toplamda iki plazma örneğinde bakteri DNA'sı pozitif olarak yorumlanmıştır.**

**Bu çalışmada, sadece iki hastanın plazma örneklerinde bakteri DNA'sı pozitif olarak tespit edilmiş olması ve bu pozitif örnek sayısının istatistiksel olarak**

anlamli sonuç oluşturmayacak kadar düşük olması nedeniyle DNA'sı pozitif çıkan plazma örneklerinde yapılması planlanmış ileri metagenomik analizler ve tür tayini gerçekleştirilememiştir.

Literatür incelendiğinde, oral bakterilerin kan dolaşımında saptanmasını amaçlayan oral mobil mikrobiyom ilişkisi ile ilgili araştırmaların tümünün erişkinler üzerinde yapıldığı, çocuklar üzerinde gerçekleştirilmiş bir mobil mikrobiyom çalışmasının olmadığı gözlenmektedir. Bu nedenle, kalp hastası çocuklarda ve sağlıklı çocuklarda mobil mikrobiyomuna ilişkin olarak bu çalışmada elde edilen bulgular diğer çalışmaların bulguları ile karşılaştırılamamıştır. Ağız içi bakterilerin kan dolaşımına geçişindeki en önemli etkenlerden birinin periodontitis, kök kanal infeksiyonları veya doku travması ile ilişkili yaygın doku enflamasyonu varlığı olduğunu göz önünde bulundurulduğunda, kalp hastası ve kontrol grubu çocuklardan alınan kan örneklerinde sadece iki örnekte bakteri DNA'sının pozitif olarak saptanmış olması, çocukların periodontal olarak sağlıklı olmaları ile de ilişkilendirilebilir.

#### 5.2.4. Kalp Hastası ve Kontrol Grubu ocuklarda Oral Mikrobiyomun Değerlendirilmesi

Rosn ve ark. 6-19 yaş arası kalp hastası ve sağlıklı kontrol grubu çocuklarda tükürüğün mikrobiyal profilini araştırmışlar, *S. mutans* düzeyinin kalp hastası grupta  $5,2 \times 10^4$ , kontrol grubunda  $8,1 \times 10^3$  olarak belirlendiğini, sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığını bildirmişlerdir (Rosn ve ark.2010).

Sonbol ve ark. hemofili hastası ve sağlıklı çocuklarda tükürük mikrobiyotasını araştırdıkları kültür çalışmasının sonucunda, *S. mutans*'ın hemofili grubunda %40, sağlıklı kontrol grubunda %63 olarak saptandığını belirtmişlerdir (Sonbol ve ark. 2001).

Row ve ark. gerçekleştirdikleri çalışmada tükürükte *S. mutans* varlığını 3-17 yaş arası çocuklarda %47,4, 18 yaş üstü erişkinlerde %56,2 olarak bildirmişlerdir (Row ve ark. 2016).

nsal ve ark. şiddetli erken çocukluk ağı rğ (şE) olan ve rksz kontrol grubu çocuklarda gerçekleştirdikleri çalışmanın sonucunda; *S. mutans* görülme oranı şE grubunda %70, kontrol grubunda %15 olarak bildirmişlerdir (Unsal ve ark. 2017).

Henne ve ark. gerçekleştirdikleri qPCR çalışması sonucunda *S. mutans* görülme oranını diş çürüğü varlığında % 61,5, çürüksüz bireylerde ise %10 olarak belirtmişlerdir (Henne ve ark. 2015).

Hirasawa ve Takada Tokyo'da gerçekleştirdikleri çalışmanın sonucunda, 5-38 yaş grubu 103 kişiden elde edilen dental plak örneklerinde *S. mutans* prevalansını çürüksüz grupta %58,3, inaktif çürüklü grupta %75, aktif çürüklü grupta %95,7, serotip *k* prevalansını ise %10,6 olarak bildirmişlerdir (Hirasawa ve Takada 2003).

Lapirattanakul ve ark. Tayland'da gerçekleştirdikleri çalışmada 50 kişiden izole edilen 250 *S. mutans* suşunda serotip değerlendirmesi yapmışlar ve örneklerin %2,8'ini serotip *k* olarak tanımladıklarını belirtmişlerdir (Lapirattanakul ve ark. 2009).

Topçuoğlu ve ark. kalp hastası ve sağlıklı kontrol grubu çocuklarda tükürükte bulunan *S. mutans* ve *S. mutans* serotip *k* varlığını araştırdıkları çalışmada, *S. mutans*'ın kalp hastası grupta %76, kontrol grubunda %60 oranında izole edildiğini, sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığını belirtmişlerdir. Ayrıca çalışmada serotip *k*'nın kalp hastası grupta tükürük örneklerinin %12'sinde saptandığı ancak kontrol grubunda hiçbir örnekten izole edilmediği bildirmişlerdir (Topcuoglu ve ark. 2013).

Nakano ve ark. 2-18 yaş grubu 200 kişiden alınan tükürük örneklerinde serotip *k* varlığını araştırdıkları PCR çalışması sonucunda serotip *k*'nın prevalansını %5 olarak belirtmişlerdir (Nakano ve ark. 2004b).

Nakano ve ark. 2-12 yaş grubu 69 sağlıklı çocuk ve annelerinden alınan oral örneklerde *S. mutans* serotip *k* varlığını araştırmışlar ve çocukların %2,9'unda serotip *k* saptandığını ancak annelerden alınan hiçbir örnekten izole edilmediğini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada 49-80 yaş arası kardiyovasküler cerrahi hastalarında serotip *k* izolasyonu %10,3 olarak bildirilmiştir (Nakano ve ark. 2007a). Kardiyovasküler cerrahi hastalarının dahil edildiği bir başka çalışmada *S. mutans* serotip *k* subakut infektif endokardit hastalarında %75 olarak saptanırken, infektif endokarditi bulunmayan hastalarda %20 olduğu belirtilmiştir (Nakano ve ark. 2007b).

**Bu tez çalışmasında, *S. mutans*'ın ve *S. mutans* serotip *k*'nın tükürük örneklerinde izole edilme oranları incelendiğinde, *S. mutans*'ın kalp hastası çocukların %95'inde, kontrol grubundaki çocukların %100'ünde, *S. mutans***

serotip *k*'nın kalp hastası çocukların %10'unda, kontrol grubundaki çocukların %20'sinde izole edilmiş; bakteri varlığı ve bakteri sayılarına göre gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Çalışmaya katılan tüm çocukların değerlendirilmesinde ise 40 çocuğun %97,5'inde *S. mutans*'ın pozitif, %15'inde *S. mutans* serotip *k*'nın pozitif olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada DMFT, DMFS, dft, dfs oranlarının da yüksek olarak saptanmış olması göz önünde bulundurulduğunda, çalışma kapsamında değerlendirilmiş bulunan tüm çocukların yüksek çürük risk grubunda olduğu görülmektedir.

Kalp dokusu örneklerinde ve infektif endokardit hastalarında sıklıkla izole edildiği bildirilen *S. mutans* serotip *k*, bu çalışmada kalp hastası grubunda iki hastanın tükürük örneklerinde izole edilmiştir. Tükürük örneklerinde *S. mutans* serotip *k* pozitif olduğu tespit edilen bu iki kalp hastası çocuğun infektif endokardit açısından yüksek risk taşıması nedeniyle ağız diş sağlığı tedavilerinin ve takiplerinin yapılması büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada ayrıca, tükürük örneğinde *S. mutans* serotip *k* pozitif olduğu saptanan kalp hastası çocukların birinin (örnek no:22) plazma örneğinde de bakteriyel DNA tespit edilmesi ve en yüksek  $\beta$ -globin'in oranının da bu hastada saptanmış olması medikal tetkik ve takip açısından hastanın tekrar değerlendirilmesinin gerekliliğini düşündürmektedir.

Bu tez çalışmasında *S. mutans* sayısı ile DMFT+dft ölçümleri ( $p=0,007$ ) ve DMFS+dfs ölçümleri ( $p=0,007$  ve  $p=0,003$ ;  $p<0,01$ ) arasında ve *S. mutans* seroitp *k* sayısı ile DMFT+dft ölçümleri arasında ( $p=0,021$ ;  $p<0,05$ ) pozitif yönlü, istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır. Elde edilen bu bulgular, *S. mutans*'ın diş çürüğündeki önemli rolü göz önüne alındığında literatürü destekler niteliktedir.

Periodontal patojenler çoğunlukla subgingival bölgelerde kolonize olmakla birlikte, tükürük mikrobiyomunun da bu patojenleri içerdiği, tükürük örneklerinin bireyin periodontal sağlığının tespitinde kullanılabileceği bilinmektedir (Könönen ve ark. 2007; Paju ve ark. 2009).

Periodontal patojenlerin karışık dişlenme döneminde ağız ortamında düşük sayıda bulunmasının bile bireyin taşıyıcı olarak tanımlanmasına sebep olacağı ve ergenlik döneminde periodontitis gelişme riski olduğu belirtilmiştir (Watanabe ve Frommel 1993).

Suda ve ark. 95 Japon çocuktan aldıkları subgingival plak örneği ile gerçekleştirdikleri çalışmada, örneklerin 8-9 yaş grubunda %24,4'ünden, 10-11 yaş grubunda %28'inden *P. gingivalis* izole edildiğini bildirmişlerdir (Suda ve ark. 2003).

Ayrıca çocuklarda *P. gingivalis*' in saptanmasının, diğer aile üyelerindeki varlığı ile yüksek oranda ilişkili olduğu bilinmektedir (Tuite-McDonnell ve ark. 1997). Enfekte bir şahısla temasın çocukların ağız boşluğunda bu patojenin geçici olarak kolonize olmasına sebep olabileceği, ancak derin bir periodontal cep gibi uygun bir kalıcı nişin yokluğunda kolonizasyonunu sürdürmemeye olasılığının yüksek olduğu belirtilmiştir. Çalışmalar *P. gingivalis* kolonizasyonunun periodontitisli erişkinlerde çocuklardakinin aksine, periodontal tedaviler sonrası bile stabil kalabildiğini göstermektedir (Shiloah ve ark. 1997).

McClellan ve ark. 0-18 yaş arası 198 çocuktan aldıkları tükürük örneklerinde *P. gingivalis* varlığını PCR analizi ile incelemişler ve çocukların %27'sinde *P. gingivalis* kolonizasyonu tespit edildiğini bildirmişlerdir. Çalışmada tükürük örneğinden *P. gingivalis* izole edilen en küçük çocuğun 20 günlük olduğu, çalışmaya dahil edilen henüz dişi sürmemiş 6 bebeğin 3'ünün *P. gingivalis* pozitif olduğu belirtilmiş, bu bakterinin hayatın ilk günlerinde, henüz esas ekolojik nişi olan dişeti cepleri oluşmadan ağız ortamında kolonize olabildiği bildirilmiştir. Ayrıca ağız boşluğunun *P. gingivalis* ile erken kolonizasyonunun ileri dönemde periodontitis için bir risk faktörü olduğu vurgulanmıştır (McClellan ve ark. 1996).

*P. gingivalis* oksijenle temasta hayatta kalamadığı için bakterinin transmisyonunun aile bireylerinden yakın temas ile olabileceği, çocuklarda *P. gingivalis* kolonizasyonunun aile bireylerindeki kolonizasyon ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Petit ve ark. 1994).

Row ve ark. gerçekleştirdikleri çalışmada tükürükte *P. gingivalis* varlığını 3-17 yaş arası çocuklarda %15,8, 18 yaş üstü erişkinlerde %24,7 olarak bildirmişlerdir (Row ve ark. 2016).



Kulekci ve ark. 6-13 yaş arası 41 çocukta tükürükteki periodontal patojenlerin PCR analiz ile araştırdıkları çalışmada, *A. Actinomycetemcomitans*'ın örneklerin %24'ünden, *P. gingivalis*'in %12'sinden izole edildiğini bildirmişlerdir (Kulekci ve ark. 2008).

Bulut ve ark. 4-8 yaş arası 30 kalp hastası çocukta gerçekleştirdikleri kültür çalışmasında *A. Actinomycetemcomitans*'ın örneklerin %3,3'ünde, *Porphyromonas* ve pigmentli *Prevotella* cinsi bakterileri %23,3'ünde tespit ettiklerini bildirmişlerdir (Bulut ve ark. 1998).

Aren ve ark. 4-7 yaş arası 16 çocukta süt dişi dizisinde *A. actinomycetemcomitans* varlığını araştırdıkları çalışmada plak örneklerinin %25'inde, dil örneklerinin %18,7'sinde *A. actinomycetemcomitans* izole edildiğini belirtmişlerdir (Aren ve ark. 1996).

Türkiye'de popülasyonun 15-19 yaş grubunda sadece %26'sı, 35-44 yaş grubunda ise sadece %3'ü periodontal olarak sağlıklı olduğu için (Saydam ve Möller 1987), Türk çocuklarda periodontal patojenlerin aileden vertikal geçiş riskinin yüksek olabileceği, ayrıca tükürüklerinde periodontal patojen kolonizasyonu bulunan bu çocukların da horizontal geçiş için bir kaynak olabileceği bildirilmiştir (Kulekci ve ark. 2008).

Okada ve ark. çocuklarda *A. Actinomycetemcomitans* ve *P. gingivalis* varlığını tespit etmek için gerçekleştirdikleri çalışmada, 2-12 yaş arası, periodontal olarak sağlıklı, gingivitisli ve periodontitisli 104 çocuktan diş fırçası yardımı ile topladıkları dental plağı PCR analizi ile incelemişlerdir. *A. Actinomycetemcomitans*'ın prevalansının sağlıklı çocuklarda %4,8, gingivitisli çocuklarda %6,8 ve periodontitisli çocuklarda %20, *P. gingivalis*'in ise sağlıklı çocuklarda %4,8, gingivitisli çocuklarda %9,6 ve periodontitisli çocuklarda %20 olduğunu, *A. Actinomycetemcomitans* ve *P. gingivalis*'in çocuklarda sağlıklı ağız boşluğunda nadiren kolonize olduğunu belirtmişlerdir (Okada ve ark. 2000).

Umeda ve ark. 1-15 yaş arası 56 çocuğun tükürük ve plak örneklerinde periodopatojen bakterileri PCR analizi ile araştırdıkları çalışmada, *A. Actinomycetemcomitans*'ın prevalansını %1,8, *P. gingivalis*'in ise %8,9 olarak saptandığını bildirmişlerdir (Umeda ve ark. 2004).

Yang ve ark. periodontal olarak sağlıklı, gingivitisli ve periodontitisli adolesanlarda subgingival plakta periodontal patojenlerin varlığını araştırdıkları qPCR çalışmasının sonucunda, *P. gingivalis* varlığını sağlıklı grupta %81,3, gingivitisli grupta %91,1, periodontitisli grupta %100 olarak bildirmişlerdir (Yang ve ark. 2014).

Gafan ve ark. çocuklarda periodontal patojenlerin prevalansını araştırdıkları çalışmada, 5-9 yaş arası, 65 periodontal olarak sağlıklı, 53 gingivitisli çocuktan aldıkları dental plaktan hem universal primerler, hem de türe özgü primerler kullanarak 16S rRNA analizleri gerçekleştirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda periodontal olarak sağlıklı grupta *P. gingivalis* %49, *A.actinomyetemcomitans* %55, gingivitisli grupta ise *P. gingivalis* %47, *A.actinomyetemcomitans* % 59 olarak saptanmış, her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı bildirilmiştir (Gafan ve ark. 2004).

Lamell ve ark. 0-18 yaş grubu 222 çocukta gerçekleştirdikleri çalışmada, PCR analizi ile çocuklarda *A. actinomyetemcomitans* ve *P. gingivalis* varlığını araştırmışlar, ilk örnek alımından 1-3 yıl sonra hastaları tekrar kontrole çağırarak bu patojenlerin kolonizasyon stabilitesini araştırmışlardır. *A. actinomyetemcomitans* ilk örnek alımında %48, ikinci kontrolde %51 oranında, *P. gingivalis* ise ilk örnek alımında %23, ikinci kontrolde %43 oranında izole edilmiştir. Çalışmanın sonucunda küçük çocuklarda bu patojenlerin kolonizasyonunun geçici olabileceği, ancak ergenlik yıllarında stabilizasyon kazanabildiği belirtilmiştir (Lamell ve ark. 2000).

Tanaka ve ark. 3-16 yaş arası 60 çocuktan topladıkları subgingival plak örneğinde periodontal patojenleri araştırdıkları çalışmanın sonucunda, *P. gingivalis*'in çocukların %22'sinde, *A. actinomyetemcomitans*'in ise %23'ünde pozitif olduğunu, bu bakterilerin bulunma sıklığının ağız hijyen indeksi ve plak indeksiyle ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Tanaka ve ark. 2003).

Sirinian ve ark. farklı etnik gruplardan 4-15 arası sağlıklı 150 çocuktan aldıkları tükürük örneklerinde periodontal patojenleri araştırmışlar; *A. actinomyetemcomitans*'in çocukların %15'inde, *P. gingivalis*'in de %15'inde pozitif olduğunu, periodontal patojen varlığının ise son dişhekimi ziyareti sonrası geçen süre ve annenin eğitim durumu ile ilişki bulunduğunu bildirmişlerdir (Sirinian ve ark. 2002).

Zhou ve ark. 24 genç erişkinin tükürük örneklerinde periodontal patojenlerin varlığını araştırdıkları qPCR çalışmasında, *P. gingivalis*'in örneklerin %45,8'inde, *A.*

*actinomyetemcomitans*'ın % 33,3'ünde pozitif olduğunu belirtmişlerdir (Zhou ve ark. 2015).

Paolantonio ve ark. İtalya'da kırsal ve kentsel alanlardaki okullardan, sistemik olarak sağlıklı, 6-14 yaş arası toplam 780 çocuktan aldıkları örnekleri *A. actinomyetemcomitans* varlığı açısından anaerobik kültür ile incelemişler; kırsal ve kentsel bölgelerden alınan örneklerde *A. actinomyetemcomitans* oranının sırasıyla %30,3 ve %16 olarak saptandığını, kırsal bölgede yaşayanlarda *A. actinomyetemcomitans* varlığının anlamlı olarak daha yüksek bulunduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca kırsal gruptaki supragingival plak miktarının kentsel gruba göre daha fazla olduğu, ağız hijyen alışkanlıklarına ilişkin bu farkın ise *A. Actinomyetemcomitans*'ın izole edilme oranlarındaki farklılık ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Sosyo-ekonomik durumun ağız hijyeni ve periodontal durumda etkili bir faktör olduğu, önemli bir periodontopatojen olan *A. actinomyetemcomitans* varlığının sosyo-ekonomik ve kültür düzeyi ile ilişkilendirilebileceği belirtilmiştir (Paolantonio ve ark. 2000).

Jardim Júnior ve ark. Brezilya'da gerçekleştirdikleri çalışmada gingivitisli çocuklardan aldıkları subgingival plak örneklerinin %40,14'ünde *A. actinomyetemcomitans*'ın pozitif bulunduğunu bildirmişlerdir (Jardim Júnior ve ark. 2006).

Agresif periodontitisin 20 yaş altı popülasyonun yaklaşık %0,2'sini etkilediği ve *A. actinomyetemcomitans* varlığı ile yakından ilişkilendirildiği belirtilmektedir (American Academy of Periodontology 1996). *A. actinomyetemcomitans*'ın özellikle yüksek lökotoksin aktivitesine sahip JP2 klonunun ise adolesanlarda ataşman kaybı ile direkt olarak ilişkilendirildiği bildirilmektedir (Åberg ve ark. 2014).

Jensen ve ark. karışık dişlenme dönemindeki 513 Fas'lı çocuktan aldıkları plak örneklerini *A. actinomyetemcomitans* ve *A. actinomyetemcomitans* JP2 klonu kolonizasyonu açısından incelemişler; *A. Actinomyetemcomitans*'ın çocukların %36,3'ünde pozitif, JP2 klonunun ise çocukların %9'unda ise pozitif bulunduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada ayrıca periodontal muayenede sadece JP2 pozitif bulunan grupta  $\geq 3$ mm cep derinliği ve ataşman kaybı ölçüldüğü belirtilmiştir (Jensen ve ark. 2016).

Bozdoğan ve ark. 25 kalp hastası ve 25 sağlıklı kontrol grubu çocuktan aldıkları tükürük örneklerinde *A. actinomycetemcomitans* ve *A. actinomycetemcomitans* JP2 klonu varlığını inceledikleri PCR çalışmasında, kalp hastası çocukların %8'inde, kontrol grubunun %20'sinde *A. actinomycetemcomitans* bulunduğunu, JP2 klonuna ise kalp hastası grupta rastlanmadığını, kontrol grubunda ise 1 hastadan (%4) izole edildiğini bildirmişlerdir (Bozdogan ve ark. 2016).

Elamin ve ark. Sudan'lı agresif periodontitisli ve sağlıklı kontrol grubu adolesanlarda subgingival plakta *A. actinomycetemcomitans* ve *A. actinomycetemcomitans* JP2 klonu varlığını inceledikleri PCR çalışmasında, *A. Actinomycetemcomitans*'ın agresif periodontitisli grupta %70,6 , kontrol grubunda %5,9 oranında izole edildiğini, JP2 klonu ise hiçbir hastada saptanmadığı belirtilmiştir (Elamin ve ark. 2011).

Haubek Faslı adolesanlardan aldığı 217 plak örneğinin PCR incelemesi sonucunda, örneklerin %60,4'ünün *A. actinomycetemcomitans* pozitif, %8,7'sinin JP2 klonu pozitif olduğunu ve JP2 klonu varlığının agresif periodontitis ile anlamlı derecede ilişkili olduğunu bildirmiştir (Haubek 2010).

Çocuklarda ağız boşluğunda JP2 klonu kolonizasyonu ile ilgili sınırlı sayıda araştırma bulunduğu, yapılmış bu çalışmaların ise çoğunlukla adolesanlar ve genç erişkinlerde gerçekleştirildiği görülmektedir.

**Bu tez çalışmasında, tükürük örnekleri *A. actinomycetemcomitans*, *A. actinomycetemcomitans* JP2 klonu ve *P. gingivalis* açısından analiz edildiğinde, *A. actinomycetemcomitans* kalp hastası çocukların %20'sinde, kontrol grubundaki çocukların %35'inde, *A. actinomycetemcomitans* JP2 klonu kalp hastası çocukların %15'inde, kontrol grubundaki çocukların %5'inde, *P. gingivalis* ise kalp hastası çocukların %30'unda, kontrol grubundaki çocukların %25'inde izole edilmiş; bakteri varlığı ve bakteri sayılarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmamıştır. Çalışmaya katılan tüm çocuklar değerlendirildiğinde ise 40 çocuğun %27,5'inin *A. actinomycetemcomitans* pozitif, %10'unun *A. actinomycetemcomitans* JP2 klonu pozitif, %27,5'inin *P. gingivalis* olduğu tespit edilmiştir. Çocukluk çağında ağız boşluğunun periodontal patojenler tarafından kolonize edilmesi ileri yaşlarda periodontal hastalık gelişme riskini arttırması nedeniyle, periodontal patojenler bakteriler için pozitif olan çocuklarda**

uzun dönem takiplerinin yapılması önem taşımaktadır. Oral bakterilerin sebep olduğu bakteremide en önemli etkenlerden birinin periodontitis ile ilişkili doku enflamasyonu olduğu göz önünde bulundurulduğunda, özellikle kalp hastası çocuklarda, periodontal hastalık riskinin belirteçlerinden kabul edilen *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* ve özellikle JP2 klonunun erken yaşlarda kolonizasyonun tespit edilmesi infektif endokardit riskinin azaltılması açısından önemli bir parametre olarak düşünülmelidir.

Literatürde sıklıkla Kuzey Afrika kökenli popülasyonların oral mikrobiyomunda izole edildiği bildirilen JP2 klonunun Avrupa, Asya ve Amerika'da nadiren izole edildiği bildirilmiştir. Bu tez çalışmasında, tükürük örnekleri JP2 klonu açısından incelendiğinde, kalp hastası grubunda 3 örnekte, kontrol grubunda ise 1 örnekte olmak üzere çocukların %10'unda JP2 klonu izole edilmiştir. Bu çalışmanın kalp hastası çocuklarda tükürükte JP2 klonunun izole edildiğini bildiren ilk çalışma olduğu görülmektedir. Ayrıca coğrafik yayılım özelliği gösterdiği bildirilen *A. actinomycetemcomitans* JP2 klonuna ilişkin ülkemizde yapılacak gelecek çalışmaların JP2 klonunun Türkiye prevalansını açığa çıkaracak olması nedeniyle önem taşımaktadır.

JP2 klonu prevalansına ilişkin yapılmış çalışmalarda klonun daha çok sosyoekonomik düzeyi düşük gruplarda izole edildiği de öne sürülmektedir. Ancak bu çalışma kapsamında ailelerin sosyoekonomik düzeyleri incelenmemiştir; bu nedenle, ülkemizde JP2 klonuna ilişkin gelecekte yapılması planlanacak çalışmalarda sosyoekonomik düzeyin de incelenmesi JP2 klonu izole edilmesi parametrelerine katkı sağlayacaktır.

JP2 klonunun agresif periodontitis ile ilişkilendirildiği göz önüne alındığında, JP2 klonunun erken dönem kolonizasyonunun takibi önem taşımaktadır. Çocuklarda gerçekleştirilen bu çalışmada, JP2 klonu izole edilmiş çocukların uzun dönem takibinin yapılmasının yanısıra erken dönem kolonizasyonunun aileden vertikal geçişle olmuş olabileceği düşünülerek JP2 klonu izole edilen çocukların ailelerinde de periodontal doku muayenesinin yapılmasının gerekli ve yararlı olacağı düşünülmektedir.

*A. actinomycetemcomitans* ve *P. gingivalis* bulunma oranları literatürde sıklıkla periodontal sağlıkla ilişkilendirilmiş, gingivitis ve periodontitis

**durumlarında ağız ortamından izole edilme oranlarının arttığı belirtilmiştir. Bu tez çalışmasında *A. actinomycetemcomitans* varlığı ile plak indeksi ve modifiye dişeti indeksi değerleri arasında ( $p=0,015$  ve  $p=0,010$ ;  $p<0,05$ ) ve *P. gingivalis* varlığı ile modifiye dişeti indeksi arasında ( $p=0,003$ ;  $p<0,01$ ) pozitif yönlü, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanması da literatürü destekler niteliktedir.**

Kamma ve ark. karışık dişlenme dönemindeki 40 çocukta farklı diş bölgelerinden topladıkları subgingival plak örneklerinde gerçekleştirdikleri kültür çalışmasında, *F. nucleatum*'un süt dişlerinde %33,8 , sürekli dişlerde %37,5 pozitif bulunduğunu, *F. nucleatum*'un sondalamada kanama olmayan bölgelerle ilişkilendirildiğini belirtmişlerdir (Kamma ve ark. 2000).

Kobayashi ve ark. 3-9 yaş arası Japon çocuklarda gerçekleştirdikleri çalışmanın sonucunda plak örneklerinin %32,1'inin *F. nucleatum* pozitif olduğunu, *F. nucleatum* pozitif olan dental plak örneklerinde periodontopatojen bakteri çeşitliliğinin, *F. nucleatum* negatif örneklere göre daha fazla olduğunu, periodontal patojen bakteri çeşitliliğinin yaşla arttığını ve *F. nucleatum* varlığı ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Kobayashi ve ark. 2008).

He ve ark. Çin'de gerçekleştirdikleri çalışmada periodontitisli ve periodontal olarak sağlıklı bireylerden aldıkları tükürük, supragingival plak ve subgingival plak örneklerini qPCR ile analiz etmişler ve tüm örneklerde *F. nucleatum* izole ettiklerini, periodontitisli grupta *F. nucleatum* sayısının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (He ve ark. 2012).

Zhou ve ark. 24 sağlıklı genç erişkinin tükürük örneklerinde periodontal patojenlerin varlığını araştırdıkları qPCR çalışmasında, örneklerin tümünde *F. nucleatum* pozitif tespit edildiğini belirtmişlerdir (Zhou ve ark. 2015).

Yang ve ark. periodontal olarak sağlıklı, gingivitisli ve periodontitisli adolesanlarda subgingival plakta periodontal patojenlerin varlığını araştırdıkları qPCR çalışmasının sonucunda, *F. nucleatum* varlığını sağlıklı grupta %81,3, gingivitisli grupta %76,1, periodontitisli grupta %100 olarak bildirmişlerdir (Yang ve ark. 2014).

van Winkelhoff ve ark. Hollanda'da *F. nucleatum* varlığının periodontitisli bireylerde %95,7, periodontal olarak sağlıklı bireylerde ise %85,5 olarak belirtmişlerdir (van Winkelhoff ve ark. 2002).

Boutaga ve ark. periodontitisli ve periosontal olarak sağlıklı bireylerden aldıkları subgingival plak örneklerinde periodontal patojenlerin varlığını kültür ve qPCR analizi ile araştırmışlar, en sık izole edilen bakteri türünün *F. nucleatum* olduğunu, periodontitisli bireylerde kültür yöntemiyle %96,5, qPCR ile %97,3, sağlıklı bireylerde ise her iki yöntemle de %98,2 oranında tespit edildiğini; bakteri sayıları karşılaştırıldığında, periodontitisli grupta *F. nucleatum* sayısının kontrol grubuna oranla anlamlı derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Boutaga ve ark. 2006).

Çalışmalarda periodontal olarak sağlıklı bireylerden de *F. nucleatum*'un yüksek oranlarda izole edilmesi, spesifik bakterilerin sadece varlığının periodontitis gelişiminde etkin olmadığı, hastalık durumunun değerlendirilebilmesi için bu bakterilerin sayısının da önemli olabileceği fikrini desteklediği öne sürülmüştür (Teles ve ark. 2006).

Dental plakta *F. nucleatum* varlığının periodontopatojen bakterilerle koaggregasyon sağlayarak biyofilm oluşumunda önemli bir rol oynadığı, *P. gingivalis*'in oksijenli ortamlarda yaşayıp çoğalabilmesi için destek sağladığı ve *F. nucleatum* kolonizasyonunun periodontal bakteri kolonizasyonunu kolaylaştırdığı bildirilmiştir (Bradshaw ve ark. 1998; Foster ve Kolenbrander 2004; Edwards ve ark. 2006).

**Bu tez çalışmasında, *F. nucleatum* hem kalp hastası, hem de kontrol grubundaki çocukların tümünün tükürük örneklerinde (%100) yüksek sayılarda izole edilmiş; bakteri varlığı ve bakteri sayılarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Periodontal olarak sağlıklı bireylerde de sıklıkla izole edildiği bildirilen *F. nucleatum*'un periodontal bakterilerin kolonizasyonunu kolaylaştırdığı, hastalık durumunun değerlendirilebilmesi için *F. nucleatum* sayısının önemli olduğu bilinmektedir. Çalışmada *F. nucleatum*'un tüm çocuklarda ve yüksek sayılarda saptanması periodontitis riskini gösterebileceği, bu nedenle, çocuklarda periyodik ağız diş sağlığı kontrollerinin yapılmasının önemli olduğu düşünülmektedir.**

Bu tez çalışması sonucunda çocukların tükürük örneklerinden izole edilen *F. nucleatum* sayısı ile plak indeksi değerleri arasında pozitif yönlü istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır ( $p=0,039$ ;  $p<0,05$ ). Bu veriler, *F. nucleatum*'un dental plağın oluşumu sırasında birincil ve ikincil kolonize olan

**bakteriler arasında bir köprü görevi görerek biyofilmin olgunlaşmasında önemli rol oynadığı bilgisini destekler niteliktedir.**

**Ayrıca *F. nucleatum*'un hücre permeabilitesini arttırarak sadece kendi geçişini değil, diğer bakterilerin de kan dolaşımına geçişini kolaylaştırdığı bildirilmiştir (Edwards ve ark. 2006; Fardini ve ark. 2011). Bu nedenle, özellikle infektif endokardit riski bulunan kalp hastası çocuklarda ağız hijyen alışkanlıklarının düzenlenmesi ve oral mikrobiyomdaki *F. nucleatum* sayısının azaltılması büyük önem taşımaktadır.**

Yakın dönemde diş çürüğü oluşumu ile ilişkilendirilen *S. wiggsiae*'nin görülme prevalansına ilişkin sınırlı sayıda çalışma olduğu gözlenmektedir. Ünsal ve ark. şiddetli erken çocukluk çağı çürüğü (ŞEÇÇ) olan ve çürüksüz kontrol grubu çocuklarda dental plak örnekleri üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmanın sonucunda; *S. wiggsiae* görülme oranını ŞEÇÇ grubunda %50, kontrol grubunda %7,5 olarak bildirmişlerdir (Unsal ve ark. 2017).

Vacharaska ve ark. dental plak örneklerinde *S. wiggsiae* varlığını araştırdıkları çalışmada, erken çocukluk çağı çürüğü bulunan çocukların %63,3'ünün, çürüksüz çocukların %6,66'sının *S. wiggsiae* pozitif olduğunu belirtmişlerdir (Vacharaska ve ark. 2015).

Kingsley ve ark. 3-17 yaş grubu ortodontik tedavi gören çocuklarda *S. wiggsiae* görülme oranını %44,4 olarak bildirmişlerdir (Kingsley ve ark. 2017).

Row ve ark. tükürükte *S. wiggsiae* varlığını 3-17 yaş arası çocuklarda %26,3, 18 yaş üstü erişkinlerde %24,7 olarak belirtmişlerdir (Row ve ark. 2016).

Streiff ve ark. gerçekleştirdikleri çalışmada *S. wiggsiae* görülme oranını ortodontik tedavi gören hastalarda %14, ortodontik tedavi görmeyen hastalarda ise %19 olarak tespit etmişler, sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığını belirtmişlerdir (Streiff ve ark. 2015).

Keller ve ark. genç erişkinlerde şeker tüketiminin oral mikrobiyoma etkisini araştırdıkları çalışmanın sonucunda düşük şeker tüketimi olan grupta tükürükteki *S. wiggsiae* sayısını 300 kopya/5µlDNA, yüksek şeker tüketimi olan grupta 400kopya/5µlDNA olarak bildirmişlerdir (Keller ve ark. 2017).



Bu tez çalışmasında, *S. wiggsiae* hem kalp hastası, hem de kontrol grubundaki çocukların %95'inin tükürük örneklerinden izole edilmiştir. *S. wiggsiae* sayısı 5µl DNA'da kalp hastası grupta 220,22±294,54, kontrol grubunda 180,23±213,63 olarak saptanmıştır. Bakteri varlığı ve bakteri sayılarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Diş çürüğü ile ilişkilendirilen *S. wiggsiae*'in kalp hastası ve kontrol grubu tükürük örneklerinde *S.mutans*'ın izole edilme oranlarına paralel şekilde çok yüksek oranlarda saptanması, patojenin çürük riski ile ilişkili olduğunu ve çalışma kapsamında incelenen tüm çocukların da yüksek çürük riski taşıdığını göstermektedir. Yüksek çürük risk grubu çocukların dental plak örneklerinde gerçekleştirilmiş çalışmalarda *S.wiggsiae*'in %50-60 oranlarında izole edildiğinin bildirildiği göz önünde bulundurulduğunda, tükürük örneklerinde diş çürüğü varlığında *S. wiggsiae*'nin bulunma olasılığının dental plağa göre daha yüksek olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak, oral mikrobiyota, tüm insan vücudundaki en zengin bakteriyel çeşitliliğe sahip mikrobiyomlardan biridir. Özellikle son yıllarda geliştirilen moleküler teknikler ve metagenomik yaklaşım sayesinde oral mikrobiyomun hastalık ve sağlık durumlarındaki rolü üzerine pek çok araştırma yapılmaktadır. Ancak çocuklarda oral mikrobiyom erişkinlerden farklı yapıda ve değişen ağız içi dinamikleriyle berabere sürekli bir değişim içerisindedir. Bu tez çalışmasında elde edilen bulgular da çocuklarda oral mikrobiyomun tanımlanmasına katkı sağlar niteliktedir.

Kalp hastası çocuklarda infektif endokardit riskini ortadan kaldırmak için dental işlemler öncesi uygulanan antibiyotik profilaksisinin gerekliliği ve etkinliği son yıllarda tartışılmaktadır. Günlük aktivitelerle ilişkili olarak sık sık meydana gelen bakteremilerin infektif endokardite sebep olma riskinin, dental işlemlere bağlı olarak oluşma riskinden yüksek olduğu belirtilmekte ve optimal ağız hijyeninin antibiyotik profilaksisinden daha önemli olduğu vurgulanmaktadır. Ayrıca tüm dünyada hızla artmakta olan antibiyotik direncine yönelik de ciddi endişeler bulunmaktadır. Bakterilerin ağız boşluğundan kan dolaşımına geçişini kolaylaştıran en önemli etkenlerin periodontal dokulardaki enflamasyona bağlı vaskülarizasyondaki artış ve oral mikrobiyal yükün artışı olduğu göz önüne

alındığında, periodontal sağlığın ve dental plak kontrolünün özellikle kalp hastalığı bulunan çocuklardaki önemi büyüktür. Bu tez çalışmasında elde edilen bulgular da literatürü destekler nitelikte, tükürükteki bakterilerin çürük deneyimi, periodontal sağlık ve ağız hijyeni ile anlamlı derecede ilişkili olduğunu göstermiştir.

Periopatojen bakterilerle erken dönemde kolonize olan çocuklarda uzun dönemde artmış periodontal hastalık riski olduğu göz önünde bulundurularak düzenli takiplerinin ve kontrollerinin yapılması önemlidir. Çocuklarda periodontal sondalama ve cep ölçümlerin özellikle karışık dişlenme döneminde hatalı sonuçlar verebilmesi olasılığı nedeniyle, periopatojenlerin saptandığı yüksek risk grubundaki hastalarda detaylı ağız içi klinik muayene ve radyografik değerlendirme yapılması önemlidir. Literatürde özellikle Kuzey Afrika ülkelerinde izole edildiği bildirilen ve agresif periodontitis ile anlamlı derecede ilişkili olduğu belirtilen *A. actinomycetemcomitans* JP2 klonunun bu tez çalışmasında tükürük örneklerinden %10 gibi yüksek bir oranda izole edilmiş olması dikkat çekicidir. JP2 klonunun Türkiye'deki yayılımının ve prevalansının tespit edilmesi için geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Oral bakterilerin ağız boşluğundan sistemik dolaşıma geçerek vücut bölgelerine yayılmalarını tanımlayan mobil mikrobiyomun, başta kalp hastalıkları olmak üzere enflamatuar hastalıklar, kanser, diyabet, obezite, Alzheimer gibi pek çok hastalıkta etkin olduğu çalışmalarla gösterilmiştir. Ayrıca, periodontal patojenlerin mobil mikrobiyomun oluşumunda önemli rolü olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada, kalp hastası grubunda bir, kontrol grubunda bir olmak üzere toplam sadece iki çocuğun kan örneğinde bakteriyel DNA tespit edilmiş olması, çocuklarda periodontal hastalıkların oranı ve şiddetinin erişkinlere göre daha düşük olarak gözlenmesinin ve günlük aktiviteler kaynaklı bakteri geçişinin az olmasının mobil mikrobiyom oluşumunda etkili faktörler olabileceğini düşündürmektedir. Çocuklarda mobil ve oral mikrobiyom varlığı, içeriği ve ilişkisi üzerinde gerçekleştirilecek geniş kapsamlı gelecek araştırmalara gereksinimin ise yüksek olduğu görülmektedir.

## SONUÇLAR

Konjenital kalp hastalığı bulunan 5-15 yaş grubu çocuk ve sağlıklı kontrol grubu çocuklardan elde edilen venöz kan örneklerinin mobil mikrobiyom varlığı ve tükürük örneklerinin oral mikrobiyomda *S. mutans*, *S. mutans* serotype k, *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *A. actinomycetemcomitans* JP2 klonu ve *S. wiggisiae* açısından analiz edildiği bu tez çalışmasında aşağıda belirtilen bulgular elde edildi:

- Ortalama DMFT, DMFS, dft, dfs, toplam DMFT+dft ve DMFS+dfs değerleri kalp hastası çocuklarda sırasıyla 2,85±2,18, 5,55±5,22, 4,10±3,55, 11,35±11,37, 6,95±3,82, 16,90±11,93 olarak, kontrol grubu çocuklarda ise 5,20±3,87, 10,15±8,59, 4,50±4,37, 12,55±13,20, 9,70±4,38, 22,70±13,05 olarak saptandı.
- Kalp hastası çocukların DMFT ve DMFS değerleri kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük ( $p<0,05$ ) olarak bulundu.
- Kalp ve kontrol grubundaki çocuklar plak ve modifiye dişeti indeksleri açısından değerlendirildiğinde; plak indeksi değerlerinin gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık ( $p>0,05$ ) oluşturmadığı saptandı. Kalp hastası grubunda saptanan modifiye dişeti indeks değerinin ise kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu ( $p<0,05$ ) belirlendi.
- Kalp hastası ve kontrol grubu çocuklardan alınan venöz kan örneklerinden izole edilen DNA örneklerinin her 5µl'sinde bulunan bakteriyel DNA kopya sayıları qPCR analizi ile bakteriyel 16S rDNA genini hedefleyen universal primer çifti kullanılarak ölçülmesi sonucunda kalp hastası grubunda bir çocukta, kontrol grubunda bir çocukta olmak üzere toplam iki plazma örneğinde yüksek güvenilirlikte bakteri DNA'sı pozitif olarak saptandı. Bakteri DNA'sı pozitif plazma örnek sayısının istatistiksel değerlendirme için yetersiz olması nedeniyle bu iki plazma örneğinde ileri metagenomik analiz ve tür tayini gerçekleştirilmedi.

- Kalp hastası ve kontrol grubu çocuklardan elde edilen tükürük örneklerinden izole edilen DNA örneklerinde qPCR analizi ve 16SrRNA genini hedefleyen universal bakteri primeri kullanılması ile hedef bakteri oranlarına ilişkin elde edilen bulgular değerlendirildiğinde; kalp hastası grubu ve kontrol grubu tükürük örneklerinde sırasıyla *S. mutans* %95-%100, *S. mutans* serotip k %10-%20, *A. actinomycetemcomitans* %20-%35, JP2 klon %15-%5, *F. nucleatum* %100-%100, *S. wiggsiae* %95-%95, *P. gingivalis* %30-%25 oranlarında saptandı.
- Kalp hastası ve kontrol grubu tükürük örneklerinde hedef bakteri oranlarına ilişkin olarak elde edilen bulguların karşılaştırılmasında; *S. Mutans*, *S. mutans* serotip k, *A. Actinomycetemcomitans*, *A. actinomycetemcomitans* JP2 klon, *F. nucleatum*, *S. Wiggsiae*, *P. gingivalis* oranlarının iki grup arasında anlamlı farklılıklar ( $p>0,05$ ) oluşturmadığı belirlendi.
- Kalp hastası ve kontrol grubu tükürük örneklerinde, hedef bakteri sayılarına ilişkin olarak elde edilen bulgular değerlendirildiğinde; *S. mutans* *F. nucleatum* *S. wiggsiae* *P. gingivalis* sayılarının iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar ( $p>0,05$ ) oluşturmadığı belirlendi.
- Kalp hastası ve kontrol grubu tükürük örneklerinde, toplam bakteri sayılarına ilişkin olarak elde edilen bulgular değerlendirildiğinde; toplam bakteri sayıları ve oranlarında iki grup arasında anlamlı farklılıklar ( $p>0,05$ ) saptanmadı.
- Kalp hastası ve kontrol grubu tükürük örneklerinde hedef bakterilerin indeks değerleri ile ilişkisinin değerlendirilmesinde;
  - *S. mutans* ve *S. mutans* serotip k sayısı ile çürük indeksi değerleri arasında pozitif yönlü, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ( $p<0,05$  ve  $p<0,01$ ) saptandı.
  - *A.actinomycetemcomitans* varlığına göre çürük indeksi anlamlı farklılık göstermezken ( $p>0,05$ ); *A. actinomycetemcomitans* pozitif olan çocuklarda plak indeksi

ve modifiye dişeti indeksi değerleri *A. actinomycetemcomitans* negatif olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek ( $p<0,05$ ) bulundu.

- *P. gingivalis* varlığına göre çürük indeksi ve plak indeksi değerleri istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar ( $p>0.05$ ) göstermezken; *P. gingivalis* görülen çocuklarda modifiye dişeti indeksi *P. gingivalis* görülmeyenlerden anlamlı düzeyde yüksek ( $p<0,01$ ) olarak saptandı.

- *A.actinomycetemcomitans* JP2 klonu izole edilen olgu sayısı ve *S. mutans*, *F. nucleatum*, *S. wiggsiae* izole edilmeyen olgu sayıları istatistiksel karşılaştırma için yetersiz olduğundan indeks değerleri ile bakteri varlığının ilişkisi değerlendirilemedi.

-Tükürük örneklerindeki total bakteri sayısı ile çürük indeksi ve plak indeksi değerleri arasında pozitif yönlü, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ( $p<0,05$ ) saptandı.

- Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen veriler, çocuklarda mobil mikrobiyomun çok seyrek olduğunu; kalp hastası ve sağlıklı çocuklarda oral mikrobiyomda bakteri varlığı ve sayısı açısından anlamlı farklılıklar olmadığını göstermiştir. Bakteremi riski oral kavitede çoğunlukla periodontal sağlık sorunu ile ilişkilendirildiğinden, periopatojen Aa, JP2, Pg'nin erken kolonizasyonuna sahip çocukların uzun süreli takibi önem taşımaktadır. Çocuklarda mobil ve oral mikrobiyomun varlığı, içeriği ve ilişkisinin inceleneceği geniş kapsamlı gelecek araştırmalara gereksinimin ise yüksek olduğu görülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Aas JA, Griffen AL, Dardis SR, Lee AM, Olsen I, Dewhirst FE (2008). Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(4):1407-17.
- Åberg CH, Kwamin F, Claesson R, Dahlén G, Johansson A, Haubek D. (2014). Progression of attachment loss is strongly associated with presence of the JP2 genotype of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: a prospective cohort study of a young adolescent population. *Journal of clinical periodontology*, 41(3), 232-241.
- ACC/AHA (2008). Guideline update on valvular heart disease: Focused update on infective endocarditis. *Circulation*, 118:887-896.
- Aktören O, Uluğ D, Koruyucu M, Güven Y, Topçuoğlu N, Seymen F, Külekçi G (2015). Çocuklarda çürük risk değerlendirmesinde “Cariogram” kullanımı. *Turkiye Klinikleri Journal of Pediatric Dentistry-Special Topics*, 1(3):12-18.
- Allen BL, Katz B, Hook M (2002). *Streptococcus anginosus* adheres to vascular endothelium basement membrane and purified extracellular matrix proteins. *Microbial Pathogenesis*, 32:191–204.
- Allen HD, Driscoll DJ, Shaddy RE, Feltes TF (2013). Moss & Adams’ heart disease in infants, children and adolescents: Including the fetus and young adult. Illinois, USA: Lippincott Williams & Wilkins.
- Allison C, Simor AE, Mock D, Tenenbaum HC (1993). Prosol-chlorhexidine irrigation reduces the incidence of bacteremia during ultrasonic scaling with the Cavi-Med: a pilot investigation. *Journal of Canadian Dental Association*, 59(8):673-676.
- Al-Sarheed M, Angeletou A, Ashley PF, Lucas VS, Whitehead B, Roberts GJ (2000). An investigation of the oral status and reported oral care of children with heart and heart lung transplants. *International Journal of Pediatric Dentistry*, 10: 298-305.

Amar J, Serino M, Lange C, Chabo C, Iacovoni J, Mondot S, et al. (2011). Involvement of tissue bacteria in the onset of diabetes in humans: evidence for a concept. *Diabetologia*, 54(12), 3055-3061.

American Academy of Periodontology. (1996). Position paper: periodontal diseases of children and adolescents. *Journal of Periodontology*, 67:57–62.

Andrian E, Grenier D, Rouabhia M (2004). In vitro models of tissue penetration and destruction by *Porphyromonas gingivalis*. *Infection and Immunity*, 72:4689–4698.

Aren G, Aktören O, Külekçi G. (1996). Süt Dişi Dizisinde *Actinobacillus Actinomycetemcomitans*'in Varlığı- The Occurrence Of *Actinobacillus Actinomycetemcomitans* in The Primary Dentition. *Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry*, 30(2), 81-84.

Armitage GC (1999). Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Annals of Periodontology*, 4(1):1-6.

Asikainen S, Alaluusua S, Saxe'n L (1991). Recovery of *A. actinomycetemcomitans* from teeth, tongue, and saliva. *Journal of Periodontology*, 62:203-6.

Balmer R, Booras G, Parsons J. (2010). The oral health of children considered very high risk for infective endocarditis. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 20:173-178.

Barak S, Oettinger-Barak O, Machtei EE, Sprecher H, Ohel G (2007). Evidence of periopathogenic microorganisms in placentas of women with preeclampsia. *Journal of Periodontology*, 78(4):670-676.

Barken KB, Haagensen JA, Tolker-Nielsen T (2007). Advances in nucleic acid-based diagnostics of bacterial infections. *Clinica Chimica Acta*, 384(1-2):1-11.

Bauer KA, Lawrence LK, Finlay G. (2016). *Non bacterial thrombotic endocarditis*. <https://www.uptodate.com/contents/nonbacterial-thrombotic-endocarditis>.

Baumgartner JC, Hutter JW, Siqueira JF (2006). Endodontic microbiology and treatment of infections. In: Cohen S, Hargreaves KM, editors. *Pathways of the Pulp*. 2nd ed., Canada: Mosby Elsevier; 580- 607.

Beaglehole R, Bonita R & Kjellstrom T. (1993). Measuring health and disease. *Basic Epidemiology*, 13-20.

Belstrøm D, Holmstrup P, Bardow A, Kokaras A, Fiehn NE, Paster BJ (2016). Comparative analysis of bacterial profiles in unstimulated and stimulated saliva samples. *Journal of Oral Microbiology*, 8(1): 301-12.

Bender IB, Seltzer S, Yermish M. (2003). The incidence of bacteremia in endodontic manipulation: preliminary report. *Journal of endodontics*, 29(11), 697-700.

Bernstein D. Congenital heart disease. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (Eds.). *Nelson Textbook of Pediatrics*. 17th ed. United States of America: Saunders; 2004: 1499-1554.

Bhanji S, Williams B, Sheller B, Elwood T, Mancl L (2002). Transient bacteremia induced by toothbrushing a comparison of the Sonicare toothbrush with a conventional toothbrush. *Pediatric Dentistry*, 24(4):295-299.

Bogen G, Slots J. (1999). Black-pigmented anaerobic rods in closed periapical lesions. *International endodontic journal*, 32(3), 204-210.

Bogges KA (2005). Pathophysiology of preterm birth: emerging concepts of maternal infection. *Clinical Perinatology*, 32(3):561-569.

Bolstad AI, Jensen HB, Bakken V (1996). Taxonomy, biology, and periodontal aspects of *Fusobacterium nucleatum*. *Clinical of Microbiology Reviews*, 9(1): 55-71.

Bonow RO, Carabello BA, Chatterjee K, de Leon AC, Faxon D P, Freed MD, ... & O'rourke R A (2008). Focused update incorporated into the ACC/AHA 2006 guidelines for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to revise the 1998 guidelines for the management of patients with valvular heart disease) Endorsed by the Society of Cardiovascular Anesthesiologists, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and Society of Thoracic Surgeons. *Journal of the American College of Cardiology*, 52(13), e1-e142.

Borgnakke WS, Anderson PF, Shannon C, Jivanescu A (2015). Is there a relationship between oral health and diabetic neuropathy? *Current Diabetes Reports*, 15(11): 93.

Borgnakke WS. (2014). The traveling oral microbiome. The oral-systemic health connection, a guide to patient care, 61-102.



Boutaga K, Van Winkelhoff AJ, Vandenbroucke-Grauls CM, Savelkoul PH. (2006). The additional value of real-time PCR in the quantitative detection of periodontal pathogens. *Journal of clinical periodontology*, 33(6), 427-433.

Bozdoğan E, Aktören O (2009). Kalp hastası çocuklarda ağız-diş sağlığı. *Türk Dişhekimleri Dergisi*, 75:100-4.

Bozdoğan E, Topcuoglu N, Cetin G, Haberal I, Kulekci G, Aktoren O (2016). Presence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in saliva and cardiac tissue samples of children with congenital heart disease. *Indian Journal of Dental Research*, 27(6): 637-642.

Bozdoğan E, Topcuoglu N, Dindar A, Aktoren O, Kulekci G. (2010). Caries risk assessment of children with congenital heart disease. *Journal of Dental Research*, 89(Spec.Iss B):1595-1956.

Bozdoğan E. (2013). Kalp hastası çocuklarda *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*'ın tükürük ve kalp dokusunda incelenmesi. *Doktora Tezi*, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Bradshaw DJ, Marsh PD, Watson GK, Allison C. (1998). Role of *Fusobacterium nucleatum* and coaggregation in anaerobe survival in planktonic and biofilm oral microbial communities during aeration. *Infection and immunity*, 66(10), 4729-4732.

Brecher ME, Hay SN (2005). Bacterial contamination of blood components. *Clinical microbiology reviews*, 18(1): 195-204.

Brennan MT, Kent ML, Fox PC, Norton HJ, Lockhart PB (2007). The impact of oral disease and nonsurgical treatment on bacteremia in children. *Journal of American Dental Association*, 138(1):80-85.

Brogan, JM, Lally ET, Poulsen K, Kilian M, Demuth DR (1994). Regulation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* leukotoxin expression: analysis of the promoter regions of leukotoxic and minimally leukotoxic strains. *Infection and Immunity*, 62(2): 501-508.

Brouqui P, Raoult D (2001). Endocarditis due to rare and fastidious bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*, 14:177-207.

- Brown AR, Papasian CJ, Shultz P, Theisen FC, Shultz RE (1998). Bacteremia and intraoral suture removal: can an antimicrobial rinse help? *Journal of American Dental Association*, 129(10):1455-1461.
- Bruneau C, Perez P, Chassaigne M, Allouch P, Audurier A, Gulian C, Noel L. (2001). Efficacy of a new collection procedure for preventing bacterial contamination of whole blood donations. *Transfusion*, 41(1): 74-81.
- Bulut Ş, Şener A, Şur E, Aren G, Aktören O, Külekçi G. (1998). Kalp Hastası Çocukların Ağızlarında Actinobacillus Actinomycetemcomitans, Porphyromonas Ve Pigmentli Prevotella Cinsi Bakterilerin Varlığı\*-The Presence of Actinobacillus Actinomycetemcomitans, Porphyromonas And Pigmented Prevotella Species in The Mouth. *Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry*, 32(3), 109-113.
- Calcagni G, Unolt M, Digilio MC, Baban A, Versacci P, Tartaglia M, Marino B. (2017). Congenital heart disease and genetic syndromes: new insights into molecular mechanisms. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 17(9): 861-870.
- Cao A M, Cox MR, Eslick GD (2016). Study design in evidence-based surgery: What is the role of case-control studies? *World Journal of Methodology*, 6(1): 101.
- Castellarin M, Warren RL, Freeman JD, Dreolini L, Krzywinski M, Strauss J, *et al.* (2012). Fusobacterium nucleatum infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Genome research*, 22(2), 299-306.
- Cetin ES, Kaya S, Demirci M, Aridogan BC (2007). Comparison of the BACTEC blood culture system versus conventional methods for culture of normally sterile body fluids. *Advances in Therapy*, 24(6):1271-1277.
- Çetinkaya E, Ayhan K (2012). Mikrobiyolojide kullanılan bazı moleküler teknikler. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 2(1): 53-62.
- Chaushu S, Wilensky A, Gur C, Shapira L, Elboim M, Halftek G, Polak D, Achdout H, Bachrach G, Mandelboim O (2012). Direct recognition of Fusobacterium nucleatum by the NK cell natural cytotoxicity receptor NKp46 aggravates periodontal disease. *PLoS Pathogens*, 8:e1002601.

Chen T. & Dewhirst F. (2015). Human Oral Microbiome Database (HOMD). *Encyclopedia of Metagenomics: Genes, Genomes and Metagenomes: Basics, Methods, Databases and Tools*, 271-291.

Cherry M, Daly CG, Mitchell D, Highfield J (2007). Effect of rinsing with povidone-iodine on bacteraemia due to scaling: a randomized-controlled trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 34(2):148-155.

Chia JS, Lin YL, Lien HT, Chen JY (2004). Platelet aggregation induced by serotype polysaccharides from *Streptococcus mutans*. *Infection and Immunity*, 72: 2605–2617.

Christensen PJ, Kutty K, Adlam RT, Taft TA, Kampschroer BH (1993). Septic pulmonary embolism due to periodontal disease. *Chest*, 104(6):1927-1929.

Chu FC, Tsang CS, Chow TW, Samaranayake LP (2005). Identification of cultivable microorganisms from primary endodontic infections with exposed and unexposed pulp space. *Journal of Endodontics*, 31(6):424-429.

Claesson R, Lagervall M, Höglund-Aberg C, Johansson A, Haubek D. (2011). Detection of the highly leucotoxic JP2 clone of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in members of a Caucasian family living in Sweden. *Journal of clinical periodontology*, 38(2), 115-121.

Clarke JK (1924). On the bacterial factor in the aetiology of dental caries. *British Journal of Experimental Pathology*, 5(3): 141-147.

Clarridge JE. (2004). Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. *Clinical Microbiological Reviews*, 17(4):840-862.

Cobe HM (1954). Transitory bacteremia. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology*, 7(6):609-615.

Conrads G, Gharbia SE, Gulabivala K, Lampert F, Shah HN. (1997). The use of a 16S rDNA directed PCR for the detection of endodontopathogenic bacteria. *Journal of Endodontics*, 23(7), 433-438.

Contreras A, Rusitanonta T, Chen C, Wagner WG, Michaloxicz BS, Slots J. (2000). Frequency of 530-bp deletion in *Actinobacillus actinomycetemcomitans* leukotoxin promoter region. *Oral Microbiology and Immunology*, 15: 338–340.

- Corby PM, Lyons-Weiler J, Bretz WA, Hart TC, Aas JA, Boumenna T, Goss J, Corby AL, Junior HM, Weyant RJ, Paster BJ (2005). Microbial risk indicators in early childhood caries. *Journal of Clinical Microbiology*, 43:5753–5759.
- Corpet F. (1988). Multiple sequence alignment with hierarchical clustering. *Nucleic acids research*, 16(22), 10881-10890.
- Cortelli JR, Cortelli SC, Jordan S, Haraszthy VI, Zambon JJ. (2005). Prevalence of periodontal pathogens in Brazilians with aggressive or chronic periodontitis. *Journal of clinical periodontology*, 32(8), 860-866.
- Coulter WA, Coffey A, Saunders ID, Emmerson AM (1990). Bacteremia in children following dental extraction. *Journal of Dental Research*, 69(10):1691-1695.
- Crasta K, Daly CG, Mitchell D, Curtis B, Stewart D, Heitz-Mayfield LJ. (2009). Bacteraemia due to dental flossing. *Journal of clinical periodontology*, 36(4), 323-332.
- Curtis MA, Zenobia C, Darveau RP. The relationship of the oral microbiota to periodontal health and disease. *Cell Host & Microbe*, 2011;10:302-6.
- da Fonseca MA, Evans M, Teske D, Thikkurissy S, Amini H (2009). The impact of oral health on the quality of life of young patients with congenital cardiac disease. *Cardiology in the Young*, 19: 252-256.
- da Silva DB, Souza IP, Cunha MC (2002). Knowledge, attitudes and status of oral health in children at risk for infective endocarditis. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 12: 124-131.
- Daly C, Mitchell D, Grossberg D, Highfield J, Stewart D (1997). Bacteraemia caused by periodontal probing. *Australian Dental Journal*, 42(2):77-80.
- Daly CG, Mitchell DH, Highfield JE, Grossberg DE, Stewart D (2001). Bacteremia due to periodontal probing: a clinical and microbiological investigation. *Journal of Periodontology*, 72(2):210-214.
- Darveau RP, Tanner A, Page RC (1997). The microbial challenge in periodontitis. *Periodontology 2000*, 14:12-32.
- Darveau RP. (2010). Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nature Reviews Microbiology*, 8(7): 481-490.

- Das M, Badley AD, Cockerill FR, Steckelberg JM, Wilson WR (1997). Infective endocarditis caused by HACEK microorganisms. *Annual Review of Medicine*, 48:25–33.
- Dasanayake AP, Caufield PW, Cutter GR, Roseman JM, Koehler B (1995). Differences in the detection and enumeration of mutans streptococci due to differences in methods. *Archives of Oral Biology*, 40: 345-51.
- Dawson B. & Trapp RG. (2004). Basic & clinical biostatistics. In *Basic & clinical biostatistics*. New York, USA. Lange Medical Books (pp. 438-438).
- De Korte D, Marcelis JH, Verhoeven AJ, Soeterboek AM (2002). Diversion of first blood volume results in a reduction of bacterial contamination for whole blood collections. *Vox sanguinis*, 83(1): 13-16.
- Debelian GJ, Olsen I, Tronstad L (1998). Anaerobic bacteremia and fungemia in patients undergoing endodontic therapy: an overview. *Annals of Periodontology*, 3(1):281-287.
- del Pozo JL, Patel R (2007). The challenge of treating biofilm-associated bacterial infections. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 82(2):204-209.
- D'Ercole S, Catamo G, Piccolomini R (2008). Diagnosis in periodontology: a further aid through microbiological tests. *Critical Reviews in Microbiology*, 34(1):33-41.
- Deshpande RG, Khan MB, Genco CA (1998). Invasion of aortic and heart endothelial cells by *Porphyromonas gingivalis*. *Infection and Immunity*, 66(11):5337-43.
- Detry G, Pierard D, Vandoorslaer K, Wauters G, Avesani V, Glupczynski Y (2006). Septicemia due to *Solobacterium moorei* in a patient with multiple myeloma. *Anaerobe* 12(3):160-162.
- Dewire P, McGrath BE, Brass C (1999). *Haemophilus aphrophilus* osteomyelitis after dental prophylaxis. A case report. *Clinical Orthopedics and Related Researchs*, 363):196-202.
- Didilescu AC, Rusu D, Anghel A, Nica L, Iliescu A, Greabu M, Bancescu G, Stratul SI (2012). Investigation of six selected bacterial species in endo-periodontal lesions. *International Endodontic Journal*, 45:282- 293.

Dietl CA, Mehran RJ (2004). Infection of the post-pneumectomy space after dental procedures. *Journal of Cardiovascular Surgery*, 45(5):521-522.

Diz Dios P, Tomas Carmona I, Limeres Posse J, Medina Henriquez J, Fernandez Feijoo J, Alvarez Fernandez M (2006). Comparative efficacies of amoxicillin, clindamycin, and moxifloxacin in prevention of bacteremia following dental extractions. *Antimicrobial Agents of Chemotherapy*, 50(9):2996-3002.

Downes J, Mantzourani M, Beighton D, Hooper S, Wilson MJ, Nicholson A, Wade WG (2011). *Scardovia wiggisiae* sp. nov., isolated from the human oral cavity and clinical material, and emended descriptions of the genus *Scardovia* and *Scardovia inopinata*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 61(1): 25-29.

Driscoll DJ (2006). *Fundamentals of Pediatric Cardiology*. Illinois, USA: Lippincott Williams & Wilkins.

Edwards AM, Grossman TJ, Rudney JD (2006). *Fusobacterium nucleatum* transports noninvasive *Streptococcus cristatus* into human epithelial cells. *Infection and Immunity*, 74:654-662.

Edwards DJ, Gerwick WH (2004). Lyngbyatoxin biosynthesis: sequence of biosynthetic gene cluster and identification of a novel aromatic prenyltransferase. *Journal of the American Chemical Society*, 126(37): 11432-11433.

Egbe A, Uppu S, Lee S, Stroustrup A, Ho D, Srivastava S (2015). Temporal variation of birth prevalence of congenital heart disease in the United States. *Congenital Heart Disease*, 10(1): 43-50.

Elamin, A., Albandar, J. M., Poulsen, K., Ali, R. W., & Bakken, V. (2011). Prevalence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in Sudanese patients with aggressive periodontitis: a case-control study. *Journal of periodontal research*, 46(3), 285-291.

El-Hawary YM, El-Sayed B, Abd-Alhakem G, Ibrahim FM (2014). Deciduous teeth structure changes in congenital heart disease: ultrastructure and microanalysis. *Interventional Medicine and Applied Science*, 6(3): 111-117.

Engels-Deutsch M, Pini A, Yamashita Y, Shibata Y, Haikel Y, Scholler-Guinard, M Klein JP (2003). Insertional inactivation of *pac* and *rmlB* genes reduces the release of tumor necrosis factor alpha, interleukin-6, and interleukin-8 induced by *Streptococcus*

mutans in monocytic, dental pulp, and periodontal ligament cells. *Infection and Immunity*, 71: 5169–5177.

Ennibi OK, Benrachadi L, Bouziane A, Haubek D, Poulsen K. (2012). The highly leukotoxic JP2 clone of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in localized and generalized forms of aggressive periodontitis. *Acta Odontologica Scandinavica*, 70(4), 318-322.

Erdem AP, Sepet E, Kulekci G, Trosola SC, Guven Y (2012). Effects of two fluoride varnishes and one fluoride/chlorhexidine varnish on *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* biofilm formation in vitro. *International Journal of Medical Sciences*, 9(2):129-136.

Erverdi N, Acar A, Isguden B, Kadir T (2001). Investigation of bacteremia after orthodontic banding and debanding following chlorhexidine mouth wash application. *The Angle Orthodontist*, 71(3):190-194.

Erverdi N, Biren S, Kadir T, Acar A (2000). Investigation of bacteremia following orthodontic debanding. *The Angle Orthodontist*, 70(1):11-14.

Espinola-Zavaleta N, Soto ME, Romero-Gonzalez A, Gomez-Puente LDC, Munoz-Castellanos L, Gopal AS. et al. (2015). Prevalence of congenital heart disease and pulmonary hypertension in Down's syndrome: an echocardiographic study. *Journal of cardiovascular ultrasound*, 23(2): 72-77.

Ewald C, Kuhn S, Kalff R (2006). Pyogenic infections of the central nervous system secondary to dental affections: A report of six cases. *Neurosurgical Review* 29(2):163-166.

Fallahinejad GM, Mojtahedzadeh S, Mahdavi N, Mohtavipour S (2013). Evaluation of knowledge, attitude and practice of parents of children with cardiac disease about oral health. *Journal of Islamic Dental Association of Iran*, 25(4): 317-321.

Field CA, Gidley MD, Preshaw PM, Jakubovics N. (2012). Investigation and quantification of key periodontal pathogens in patients with type 2 diabetes. *Journal of Periodontal Research*, 47:470-478.

Fitzgerald RJ, Keyes PH (1960). Demonstration of the etiologic role of streptococci in experimental caries in the hamster. *The Journal of the American Dental Association*, 61(1): 9-19.

Flood TR, Samaranayake LP, MacFarlane TW, McLennan A, MacKenzie D, Carmichael F (1990). Bacteraemia following incision and drainage of dento-alveolar abscesses. *British Dental Journal*, 169(2):51-53.

Folayan MO, Kolawole KA, Oziegbe EO, Oyedele TA, Agbaje HO, Onjejaka NK, Oshomoji VO. (2017). Association between family structure and oral health of children with mixed dentition in suburban Nigeria. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, 35(2), 134.

Forner L, Larsen T, Kilian M, Holmstrup P (2006). Incidence of bacteremia after chewing, tooth brushing and scaling in individuals with periodontal inflammation. *Journal of Clinical Periodontology*, 33(6):401-407.

Foster JS, Kolenbrander PE. (2004). Development of a multispecies oral bacterial community in a saliva-conditioned flow cell. *Applied and environmental microbiology*, 70(7), 4340-4348.

Fraga D, Meulia T, Fenster S (2008). Realtime PCR. *Current protocols essential laboratory techniques*, 10-13.

Fujiwara T, Nakano K, Kawaguchi M, Ooshima T, Sobue S, Kawabata S, Nakagawa I, Hamada S (2001). Biochemical and genetic characterization of serologically untypable *Streptococcus mutans* strains isolated from patients with bacteremia. *European Journal of Oral Sciences*, 109: 330–334.

Gafan GP, Lucas VS, Roberts GJ, Petrie A, Wilson M, Spratt DA. (2004). Prevalence of periodontal pathogens in dental plaque of children. *Journal of clinical microbiology*, 42(9), 4141-4146.

Geerts SO, Nys M, De MP, Charpentier J, Albert A, Legrand V, *et al.* (2002). Systemic release of endotoxins induced by gentle mastication: association with periodontitis severity. *Journal of Periodontology*, 73(1):73-78.

Gholizadeh, P., Eslami, H., & Kafil, H. S. (2017). Carcinogenesis mechanisms of *Fusobacterium nucleatum*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 89, 918-925.



- Giannobile WV, McDevitt JT, Niedbala RS, Malamud D (2011). Translational and clinical applications of salivary diagnostics. *Advances in Dental Research*; 23:375-80.
- Gilbert JA, Dupont CL (2011). Microbial metagenomics: beyond the genome. *Annual Review of Marine Science*, 3: 347-371.
- Gmur R, Strub JR, Guggenheim B (1989). Prevalence of *Bacteroides forsythus* and *Bacteroides gingivalis* in subgingival plaque of prosthodontically treated patients on short recall. *Journal of Periodontal Research*, 24(2):113-120.
- Goldberg MH, Katz J (2006). Infective endocarditis caused by fastidious oropharyngeal HACEK micro-organisms. *Journal of oral and maxillofacial surgery*, 64(6):969-971.
- Goldman M, Roy G, Fréchette N, Décary F, Massicotte L, Delage G (1997). Evaluation of donor skin disinfection methods. *Transfusion*, 37: 309–312.
- Goncharoff P, Figurski DH, Stevens RH, Fine DH. (1993). Identification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: polymerase chain reaction amplification of *lktA*-specific sequences. *Molecular Oral Microbiology*, 8(2), 105-110.
- Gonzales-Marin C, Spratt DA, Allaker RP (2013). Maternal oral origin of *Fusobacterium nucleatum* in adverse pregnancy outcomes as determined using the 16S-23S rRNA gene intergenic transcribed spacer region. *Journal of Medical Microbiology*, 62(1):133-144.
- Graziano L, El-Mogy L, Haj-Ahmad Y. Genomic DNA isolation from blood collected on different anticoagulants: Citrate, EDTA & Heparin. Application Note 65, Blood DNA Purification. Erişim 22.11.2017, Norgen Biotek Corporation: <https://norgenbiotek.com>.
- Greene JC. and Vermillion JR. (1964). The simplified oral hygiene index. *The Journal of the American Dental Association*, 68(1), 7-13.
- Grenier D (1992). Demonstration of a bimodal coaggregation reaction between *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola*. *Oral Microbiology and Immunology*, 7(5):280-284.

Gross EL, Beall CJ, Kutsch SR, Firestone ND, Leys EJ, Griffen AL (2012). Beyond *Streptococcus mutans*: dental caries onset linked to multiple species by 16S rRNA community analysis. *PloS One*, 7(10): e47722.

Guthmiller JM, Lally ET, Korostoff J. (2001). Beyond the specific plaque hypothesis. Are highly leukotoxic strains of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* a paradigm for periodontal pathogenesis? *Critical Review of Oral Biology*, 12: 116–124.

Habib G, Hoen B, Tornos P, Thuny F, Prendergast B. et al. (2009). Endorsed by the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) and by the International Society of Chemotherapy (ISC) for Infection and Cancer, Guidelines on the prevention, diagnosis, and treatment of infective endocarditis (new version 2009) The Task Force on the Prevention, Diagnosis, and Treatment of Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC). *European heart journal*, 30(19), 2369-2413.

Hahn CL, Schenkein HA, Tew JG (2005). Endocarditis-associated oral streptococci promote rapid differentiation of monocytes into mature dendritic cells. *Infection and Immunity*, 73:5015–5021.

Hajishengallis G, Liang S, Payne MA, Hashim A, Jotwani R, Eskin MA, Darveau RP (2011). Low-abundance biofilm species orchestrates inflammatory periodontal disease through the commensal microbiota and complement. *Cell Host & Microbe*, 10(5):497-506.

Hajishengallis G. (2009). Porphyromonas gingivalis-host interactions: open war or intelligent guerilla tactics? *Microbes and Infection*, 11: 637–645.

Hallett KB, Radford DJ, Seow WK (1992). Oral health of children with congenital cardiac diseases: a controlled study. *Pediatric Dentistry*, 14: 224-230.

Han YW (2011). *Fusobacterium nucleatum* interaction with host cells. In: *Oral microbial communities: genomic inquiry and interspecies communication*. Kolenbrander PE, Washington, DC, USA: American Society for Microbiology Press.

Han YW (2015). *Fusobacterium nucleatum*: a commensal-turned pathogen. *Current opinion in microbiology*, 23: 141-147.

Han YW, Fardini Y, Chen C, Iacampo KG, Peraino VA, Shamonki JM, *et al.* (2010). Term stillbirth caused by oral *Fusobacterium nucleatum*. *Obstetrics & Gynecology*, 115(2):442-445.

Han YW, Ikegami A, Rajanna C, Kawsar HI, Zhou Y, Li M, Sojar HT, Genco RJ, Kuramitsu HK, Deng CX (2005). Identification and characterization of a novel adhesin unique to oral fusobacteria. *Journal of Bacteriology*, 187:5330-5340.

Han YW, Shen T, Chung P, Buhimschi IA, Buhimschi CS (2009). Uncultivated bacteria as etiologic agents of intra-amniotic inflammation leading to preterm birth. *Journal of Clinical Microbiology*, 47:38-47.

Han YW, Wang X (2013). Mobile microbiome: oral bacteria in extra-oral infections and inflammation. *Journal of Dental Research*, 92(6): 485-491.

Handelsman J, Rondon MR, Brady SF, Clardy J, Goodman RM (1998). Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. *Chemistry & Biology*, 5(10):245-249.

Hang CY, Lin SK, Kok SH, Chang SJ, Lee MS, Wang TM, *et al.* (2004). The role of lipopolysaccharide in infectious bone resorption of periapical lesion. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 33: 162-9.

Haraszthy VI, Hariharan G, Tinoco EM, Cortelli JR, Lally ET, Davis E, Zambon JJ. (2000). Evidence for the role of highly leukotoxic *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in the pathogenesis of localized juvenile and other forms of early-onset periodontitis. *Journal of periodontology*, 71(6), 912-922.

Hartzell JD, Torres D, Kim P, Wortmann G (2005). Incidence of bacteremia after routine tooth brushing. *American Journal of Medical Science*, 329(4):178-180.

Hasçelik G. Mikrobiyolojik Tanıda Yeni Yöntemler. (2013). ANKEM Dergi, 27(Ek 2):154-156.

Haubek D (2010). The highly leukotoxic JP2 clone of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: evolutionary aspects, epidemiology and etiological role in aggressive periodontitis. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica*, 118(s130):1-53.

- Haubek D, DiRienzo JM, Tinoco EMB, Westergaard J, Lopez N, Chung CP *et al.* (1997). Racial tropism of a highly toxic clone of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* associated with juvenile periodontitis. *Journal of Clinical Microbiology*, 35: 3037–3042.
- Haubek D, Ennibi OK, Poulsen K, Poulsen S, Benzarti N, Kilian M. (2001). Early-onset periodontitis in Morocco is associated with the highly leukotoxic clone of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Journal of dental research*, 80(6), 1580-1583.
- Haubek D, Ennibi O-K, Poulsen K, Vaeth M, Poulsen S, Kilian M. (2008). Risk of aggressive periodontitis in adolescent carriers of the JP2 clone of *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans* in Morocco: a prospective longitudinal cohort study. *Lancet*, 371:237-42.
- Haubek D, Poulsen K, Asikainen S, Kilian M. (1995). Evidence for absence in northern Europe of especially virulent clonal types of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Journal of Clinical Microbiology*, 33: 395–401.
- Haubek D, Poulsen K, Westergaard J, Dahlen G, Kilian M (1996). Highly toxic clone of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in geographically widespread cases of juvenile periodontitis in adolescents of African origin. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(6): 1576-1578.
- Haubek D, Westergaard J. (2004). Detection of a highly toxic clone of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (JP2) in a Moroccan immigrant family with multiple cases of localized aggressive periodontitis. *International journal of paediatric dentistry*, 14(1), 41-48.
- Hayashi C, Gudino CV, Gibson FC, Genco CA (2010). Pathogen-induced inflammation at sites distant from oral infection: bacterial persistence and induction of cell-specific innate immune inflammatory pathways. *Molecular Oral Microbiology*, 25(5): 305-316.
- He J, Huang W, Pan Z, Cui H, Qi G, Zhou X. Chen H. (2012). Quantitative analysis of microbiota in saliva, supragingival, and subgingival plaque of Chinese adults with chronic periodontitis. *Clinical oral investigations*, 16(6), 1579-1588.
- Heckmann JG, Lang CJ, Hartl H, Tomandl B (2003). Multiple brain abscesses caused by *Fusobacterium nucleatum* treated conservatively. *Canadian Journal of Neurological Sciences*, 30(3):266-268.

Hegde AM, Kavita R, Sushma KS, Shetty S. (2012). Salivary sialic acid levels and dental health in children with congenital heart disease. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 36(3), 293-296.

Hepdeniz ÖK ve Seçkin Ö. (2017). Dinamik Mikrobiyal Bir Yaşam: Oral Biyofilm A Dynamics Microbial Life: Oral Biofilm. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 8(3), 47-55.

Henne K, Rheinberg A, Melzer-Krick B, Conrads G. (2015). Aciduric microbial taxa including *Scardovia wiggisiae* and *Bifidobacterium* spp. in caries and caries free subjects. *Anaerobe*, 35, 60-65.

Herrera D, Contreras A, Gamonal J, Oteo A, Jaramillo A, Silva N, et al. (2008). Subgingival microbial profiles in chronic periodontitis patients from Chile, Colombia and Spain. *J Clinical Periodontology*, 35:106-13.

Hirasawa M. and Takada K. (2003). A new selective medium for *Streptococcus mutans* and the distribution of *S. mutans* and *S. sobrinus* and their serotypes in dental plaque. *Caries research*, 37(3), 212-217.

Honda K (2011). *Porphyromonas gingivalis* sinks teeth into the oral microbiota and periodontal disease. *Cell Host & Microbe*, 10(5): 423-425.

Hook EW, Roddy RE, Lukehart SA, Hom J, Holmes KK, Tam MR (1985). Detection of *Treponema pallidum* in lesion exudate with a pathogen-specific monoclonal antibody. *Journal of Clinical Microbiology*, 22(2):241-244.

Höglund Åberg C, Kwamin F, Claesson R, Dahlén G, Johansson A, Haubek D. (2014). Progression of attachment loss is strongly associated with presence of the JP2 genotype of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: a prospective cohort study of a young adolescent population. *Journal of clinical periodontology*, 41(3), 232-241.

Hunter KM, Holborow DW, Kardos TB, Lee-Knight CT, Ferguson MM (1989). Bacteraemia and tissue damage resulting from air polishing. *British Dental Journal* 167(8):275-278.

Hurlbutt M, Young D (2014). A best approach to caries management. *Journal of Evidence Based Dental Practice*, 14:77-86.

Iida Y, Honda K, Suzuki T, Matsukawa S, Kawai T, Shimahara T, *et al.* (2004). Brain abscess in which *Porphyromonas gingivalis* was detected in cerebrospinal fluid. *British Journal of Oral Maxillofacial Surgery*, 42(2):180-180.

Isaza MP, Duncan MS, Kaplan JB, Kachlany SC (2008). Screen for leukotoxin mutants in *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: genes of the phosphotransferase system are required for leukotoxin biosynthesis. *Infection and Immunity*, 76(8): 3561-3568.

Janket SJ, Baird AE, Chuang SK, Jones JA. (2003). Metaanalysis of periodontal disease and risk of coronary heart disease and stroke, *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics*, 95(5):559-69.

Jardim Júnior EG, Bosco JMD, Lopes AM, Landucci LF, Jardim ECG, Carneiro SRS. (2006). Occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in patients with chronic periodontitis, aggressive periodontitis, healthy subjects and children with gingivitis in two cities of the state of São Paulo, Brazil. *Journal of Applied Oral Science*, 14(3), 153-156.

Jensen AB, Ennibi OK, Ismaili Z, Poulsen K, Haubek D. (2016). The JP2 genotype of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and marginal periodontitis in the mixed dentition. *Journal of clinical periodontology*, 43(1), 19-25.

Johansson A (2011). *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* leukotoxin: a powerful tool with capacity to cause imbalance in the host inflammatory response. *Toxins (Basel)*, 3: 242-259.

Kaar TK, Bogoch ER, Devlin HR (2000). Acute metastatic infection of a revision total hip arthroplasty with oral bacteria after noninvasive dental treatment. *Journal of Arthroplasty*, 15(5):675-678.

Kahya S, Yılmaz Ö, Carlı KT. (2013). Enfeksiyöz Hayvan Hastalıklarının Teşhisinde Gerçek Zamanlı (Real-Time) PCR'ın Geleneksel PCR'a göre Avantajları. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 32(2).

Kamma JJ, Diamanti-Kipiotti A, Nakou M, Mitsis FJ. (2000). Profile of subgingival microbiota in children with mixed dentition. *Molecular Oral Microbiology*, 15(2), 103-111.

Kazanci E, Oguz KK, Gurgey A, Topcu M (2005). Streptococcus oralis as a risk factor for middle cerebral artery thrombosis. *Journal of Child Neurology*, 20(7):611-613.

Kazor CE, Mitchell PM, Lee AM, Stokes LN, Loesche WJ, Dewhirst FE, *et al.* (2003). Diversity of bacterial populations on the tongue dorsa of patients with halitosis and healthy patients. *Journal of Clinical Microbiology* 41(2):558-563.

Keller MK, Kressirer CA, Belstrøm D, Twetman S, Tanner AC. (2017). Oral microbial profiles of individuals with different levels of sugar intake. *Journal of oral microbiology*, 9(1), 1355207.

Kennedy HF, Morrison D, Tomlinson D, Gibson BE, Bagg J, Gemmell CG (2003). Gingivitis and toothbrushes: potential roles in viridans streptococcal bacteraemia. *Journal of Infection*, 46(1):67-70.

Kesavalu L, Sathishkumar S, Bakthavatchalu V, Matthews C, Dawson D, Steffen M, Ebersole JL(2007). Rat model of polymicrobial infection, immunity, and alveolar bone resorption in periodontal disease. *Infection and Immunity*, 75:1704-1712.

Keyes PH (1962). Recent advances in dental caries research. Bacteriology. Bacteriological findings and biological implications. *International Dental Journal*, 12: 443-464.

Khouzam RN, El-Dokla AM, Menkes DL (2006). Undiagnosed patent foramen ovale presenting as a cryptogenic brain abscess: case report and review of the literature. *Hear & Lung* 35(2):108-111.

Kigure T, Saito A, Seida K, Yamada S, Ishihara K, Okuda K (1995). Distribution of Porphyromonas gingivalis and Treponema denticola in human subgingival plaque at different periodontal pocket depths examined by immunohistochemical methods. *Journal of Periodontal Research*, 30(5):332-341.

Kim TS, Frank P, Eickholz P, Eick S. & Kim CK. (2009). Serotypes of Aggregatibacter actinomycetemcomitans in patients with different ethnic backgrounds. *Journal of periodontology*, 80(12), 2020-2027.

Kinane DF, Riggio MP, Walker KF, MacKenzie D, Shearer B (2005). Bacteraemia following periodontal procedures. *Journal of Clinical Periodontology*, 32(7):708-713.

- King EO, Tatum HW (1962). Actinobacillus actinomycetemcomitans and Haemophilus aphrophilus. *Journal of Infectious Diseases*, 111:85-94.
- Kingsley K. (2017). Prevalence of Scardovia wiggsiae among a Pediatric Orthodontic Patient Population. *EC Dental Science*, 13, 203-210.
- Klebanoff M, Searle K (2006). The role of inflammation in preterm birth--focus on periodontitis. *Bjog*, 113 (3): 43-45.
- Knirsch W, Nadal D. (2011). Infective endocarditis in congenital heart disease. *European journal of pediatrics*, 170(9), 1111.
- Kobayashi N, Ishihara K, Sugihara N, Kusumoto M, Yakushiji M, Okuda K. (2008). Colonization pattern of periodontal bacteria in Japanese children and their mothers. *Journal of periodontal research*, 43(2), 156-161.
- Könönen E, Paju S, Pussinen PJ, Hyvönen, Di Tella, Suominen-Taipale, Knuuttila M. (2007). Population-based study of salivary carriage of periodontal pathogens in adults. *Journal of clinical microbiology*, 45(8), 2446-2451.
- Kostic AD, Gevers D, Pedamallu CS, Michaud M, Duke F, Earl AM, et al. (2012). Genomic analysis identifies association of Fusobacterium with colorectal carcinoma. *Genome research*, 22(2), 292-298.
- Kressirer CA, Smith DJ, King WF, Dobeck JM, Starr JR, Tanner AC. (2017). Scardovia wiggsiae and its potential role as a caries pathogen. *Journal of oral biosciences*, 59(3), 135-141.
- Kulekci G, Leblebicioglu B, Keskin F, Ciftci S, Badur S. (2008). Salivary detection of periodontopathic bacteria in periodontally healthy children. *Anaerobe*, 14(1), 49-54.
- Kuriyama T, Nakagawa K, Kawashiri S, Yamamoto E, Nakamura S, Karasawa T. (2000). The virulence of mixed infection with Streptococcus constellatus and Fusobacterium nucleatum in a murine orofacial infection model. *Microbes and infection*, 2(12), 1425-1430.
- Küleççi, G. (2013). Ağız Sağlığının Yeni Tanımı: Ağız Mikrobiyomu. *Ankem Dergi*, 27(3), 167-172.
- Lafaurie GI, Contreras A, Barón A, Botero J, Mayorga-Fayad I, Jaramillo A, et al. (2007). Demographic, clinical, and microbial aspects of chronic and aggressive



periodontitis in Colombia: a multicenter study. *Journal of periodontology*, 78(4), 629-639.

Lalla E, Lamster IB, Hofmann MA, Bucciarelli L, Jerud AP, Tucker S, et al. (2003). Oral infection with a periodontal pathogen accelerates early atherosclerosis in apolipoprotein E-null mice. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 23(8), 1405-1411.

Lam NY, Rainer TH, Chiu RW, Lo YD. (2004). EDTA is a better anticoagulant than heparin or citrate for delayed blood processing for plasma DNA analysis. *Clinical chemistry*, 50(1), 256-257.

Lamell CW, Griffen AL, McClellan DL, Leys EJ. (2000). Acquisition and colonization stability of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in children. *Journal of clinical microbiology*, 38(3), 1196-1199.

Lamey PJ, Macfarlane TW, Patton DW, Samaranayake LP, Ferguson MM. (1985). Bacteraemia consequential to sialography. *British dental journal*.

Lapirattanakul J, Nakano K, Nomura R, Nemoto H, Kojima A, Senawongse P, et al. (2009). Detection of serotype k *Streptococcus mutans* in Thai subjects. *Molecular Oral Microbiology*, 24(5), 431-433.

Lazarevic V, Whiteson K, Huse S, Hernandez D, Farinelli L, Østerås M, et al. (2009). Metagenomic study of the oral microbiota by Illumina high-throughput sequencing. *Journal of microbiological methods*, 79(3), 266-271.

Ledezma-Rasillo G, Flores-Reyes H, Gonzalez-Amaro AM, Garrocho-Rangel A, Ruiz-Rodriguez MDS, Pozos-Guillen A. (2010). Identification of cultivable microorganisms from primary teeth with necrotic pulps. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 34(4), 329-333.

Lee CK, Ho PL, Chan NK, Mak A, Hong J, Lin,CK. (2002). Impact of donor arm skin disinfection on the bacterial contamination rate of platelet concentrates. *Vox sanguinis*, 83(3), 204-208.

Lee MY, Won HS, Baek JW, Cho JH, Shim JY, Lee PR, Kim A. (2014). Variety of prenatally diagnosed congenital heart disease in 22q11. 2 deletion syndrome. *Obstetrics & gynecology science*, 57(1), 11-16.

- Leung WK, Ngai VK, Ya, JY, Cheung BP, Tsang PW, Corbet EF. (2005). Characterization of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* isolated from young Chinese aggressive periodontitis patients. *Journal of periodontal research*, 40(3), 258-268.
- Li L, Messas E, Batista E., Levine RA, Amar S. (2002). Porphyromonas gingivalis infection accelerates the progression of atherosclerosis in a heterozygous apolipoprotein E-deficient murine model. *Circulation*, 105(7), 861-867.
- Li X, Kolltveit KM, Tronstad L, Olsen I. (2000). Systemic diseases caused by oral infection. *Clinical microbiology reviews*, 13(4), 547-558.
- Lindqvist C, Slätis P. (1985). Dental bacteremia—a neglected cause of arthroplasty infections?: Three hip cases. *Acta orthopaedica Scandinavica*, 56(6), 506-508.
- Ling Z, Kong J, Jia P, Wei C, Wang Y, Pan Z, et al. (2010). Analysis of oral microbiota in children with dental caries by PCR-DGGE and barcoded pyrosequencing. *Microbial ecology*, 60(3), 677-690.
- Linzer R (1986). Immunochemical aspects of serotype carbohydrate antigens of *Streptococcus mutans*. *Molecular microbiology and immunology of Streptococcus mutans*, Hollanda: Elsevier, 29-38.
- Lobene RR, Weatherford T, Ross NM, Lamm RA, Menaker L. (1986). A modified gingival index for use in clinical trials. *Clinical preventive dentistry*, 8(1), 3-6.
- Lockhart PB, Brennan MT, Kent ML, Norton HJ, Weinrib DA (2004). Impact of amoxicillin prophylaxis on the incidence, nature, and duration of bacteremia in children after intubation and dental procedures. *Circulation*, 109(23):2878-2884.
- Lockhart PB, Durack DT (1999). Oral microflora as a cause of endocarditis and other distant site infections. *Infectious Disease Clinics of North America*, 13(4):833-850.
- Lofthus JE, Waki MY, Jolkovsky DL, Otomo-Corgel J, Newman MG, Flemmig T, et al. (1991). Bacteremia following subgingival irrigation and scaling and root planing. *Journal of Periodontology*, 62(10):602-607.
- Loozen G, Ozcelik O, Boon N, De Mol A, Schoen C, Quirynen M, Teughels W. (2004). Inter-bacterial correlations in subgingival biofilms: a large-scale survey. *Journal of Clinical Periodontology*, 41:1-10.

- Lopez NJ, Da Silva I, Ipinza J, Gutierrez J (2005). Periodontal therapy reduces the rate of preterm low birth weight in women with pregnancy-associated gingivitis. *Journal of Periodontology*, 76(11):2144-2153.
- Lopez NJ, Smith PC, Gutierrez J (2002). Periodontal therapy may reduce the risk of preterm low birth weight in women with periodontal disease: a randomized controlled trial. *Journal of Periodontology*, 73(8):911-924.
- Lourenco TG, Heller D, Silva-Boghossian CM, Cotton SL, Paster BJ, Colombo AP (2014). Microbial signature profiles of periodontally healthy and diseased patients. *Journal of Clinical Periodontology*, 41:1027-1036.
- Lucas V, Roberts GJ (2000). Odontogenic bacteremia following tooth cleaning procedures in children. *Pediatric Dentistry*, 22(2): 96-100.
- Lucas VS, Omar J, Vieira A, Roberts GJ (2002). The relationship between odontogenic bacteraemia and orthodontic treatment procedures. *European Journal of Orthodontics*, 24(3):293-301.
- Lucchese A. (2017). Streptococcus mutans antigen I/II and autoimmunity in cardiovascular diseases. *Autoimmunity Reviews*. 16(5), 456-460.
- Lui KJ. (2004). *Statistical estimation of epidemiological risk*. New Jersey, USA: John Wiley & Sons.
- Mai X, LaMonte MJ, Hovey KM, Nwizu N, Freudenheim JL, Tezal M. *et al.* (2014). History of periodontal disease diagnosis and lung cancer incidence in the Women's Health Initiative Observational Study. *Cancer Causes & Control*, 25(8), 1045-1053.
- Marelli, AJ, Ionescu-Ittu R, Mackie AS, Guo L, Dendukuri N, Kaouache M (2014). Lifetime prevalence of congenital heart disease in the general population from 2000 to 2010. *Circulation*, 130: 749-756.
- Marques da Silva R, Caugant DA, Eribe ERK, Aas JA, Lingaas PS, Geiran O, *et al.* (2006). Bacterial diversity in aortic aneurysms determined by 16S ribosomal RNA gene analysis. *Journal of Vascular Surgery* 44(5):1055-1060.
- Mashima I, Theodorea CF, Thaweboon B, Thaweboon S, Scannapieco FA, Nakazawa F. (2017). Exploring the salivary microbiome of children stratified by the oral hygiene index. *PloS one*, 12(9), e0185274.

- Mathias MF, Simionato MRL, Guare RO. (2011). Some factors associated with dental caries in the primary dentition of children with Down syndrome. *European Journal of Paediatric Dentistry*, 12(1), 37.
- McClellan DL, Griffen AL, Leys EJ. (1996). Age and prevalence of *Porphyromonas gingivalis* in children. *Journal of clinical microbiology*, 34(8), 2017-2019.
- McCulloch, C. (2013). The "mobile microbiome": journey beyond the mouth. *Journal (Canadian Dental Association)*, 79, d128-d128.
- McDonald CP, Lowe P, Roy A, Robbins S, Hartley S, Harrison JF, *et al.* (2001). Evaluation of donor arm disinfection techniques. *Vox Sanguinis*, 80 (3): 135-141.
- McLaughlin RW, Vali H, Lau PC, Palfree RG, De Ciccio A, Sirois M, ... Chan EC (2002). Are there naturally occurring pleomorphic bacteria in the blood of healthy humans? *Journal of Clinical Microbiology*, 40(12):4771-4775.
- Michelow IC, McCracken GH, Luckett PM, Krisher K (2000). Abiotrophia spp. brain abscess in a child with Down's syndrome. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 19(8):760-763.
- Mlynarski EE, Sheridan MB, Xie M, Guo T, Racedo, SE, McDonald-McGinn DM, *et al.* (2015). Copy-number variation of the glucose transporter gene SLC2A3 and congenital heart defects in the 22q11. 2 deletion syndrome. *The American Journal of Human Genetics*, 96(5), 753-764.
- Mohamed Ali H, Berggreen E, Nguyen D, Wahab Ali R, Van Dyke TE., Hasturk H, Mustafa M. (2017). Dental plaque microbial profiles of children from Khartoum, Sudan, with congenital heart defects. *Journal of oral microbiology*, 9(1), 1281556.
- Moriyama K, Ando C, Tashiro K, Kuhara S, Okamura S, Nakano H. (2008). Polymerase chain reaction detection of bacterial 16S rRNA gene in human blood. *Microbiology and Immunology*, 52(7): 375-382.
- Moriyama K, Ando C, Tashiro K, Kuhara S, Okamura S, Nakano S, *et al.* (2008). Polymerase chain reaction detection of bacterial 16S rRNA gene in human blood. *Microbiology and immunology*, 52(7), 375-382.

Mukherjee PK, Wang H, Retuerto M, Zhang H, Burkey B, Ghannoum MA, Eng C. (2017). Bacteriome and mycobiome associations in oral tongue cancer. *Oncotarget*, 8(57), 97273.

Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki RK., Horn GT, Erlich H (1986). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. In *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 51: 263-273. New York, USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Munson MA, Banerjee A, Watson TF, Wade WG. (2004). Molecular analysis of the microflora associated with dental caries. *Journal of Clinical Microbiology*, 42:3023–3029.

Murphy AM, Daly CG, Mitchell DH, Stewart D, Curtis BH (2006). Chewing fails to induce oral bacteraemia in patients with periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 33(10):730-736.

Nadkarni, MA, Martin FE, Jacques NA, Hunter N. (2002). Determination of bacterial load by real-time PCR using a broad-range (universal) probe and primers set. *Microbiology*, 148(1), 257-266.

Nakano K, Inaba H, Nomura R, Nemoto H, Takeda M, Yoshioka H, *et al.* (2006). Detection of cariogenic *Streptococcus mutans* in extirpated heart valve and atheromatous plaque specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(9), 3313-3317.

Nakano K, Nemoto H, Nomura R, Homma H, Yoshioka H, Shudo Y *et al.* (2007a). Serotype distribution of *Streptococcus mutans* a pathogen of dental caries in cardiovascular specimens from Japanese patients. *Journal of Medical Microbiology*, 56: 551–556.

Nakano K, Nemoto H, Nomura R, Inaba H, Yoshioka H, Taniguchi K, *et al.* (2009a). Detection of oral bacteria in cardiovascular specimens. *Molecular Oral Microbiology*, 24(1), 64-68.

Nakano K, Nomura R, Matsumoto M, Ooshima T. (2010). Roles of oral bacteria in cardiovascular diseases—from molecular mechanisms to clinical cases: cell-surface structures of novel serotype k *Streptococcus mutans* strains and their correlation to virulence. *Journal of pharmacological sciences*, 113(2), 120-125.

Nakano K, Nomura R, Nakagawa I, Hamada S, Ooshima T (2004a). Demonstration of *Streptococcus mutans* with a cell wall polysaccharide specific to a new serotype k in the human oral cavity. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(1): 198-202.

Nakano K, Nomura R, Nemoto H, Mukai T, Yoshioka H, Shudo Y et al.(2007b). Detection of novel serotype k *Streptococcus mutans* in infective endocarditis patients. *Journal of Medical Microbiology*, 56: 1413-1455.

Nakano K, Nomura R, Shimizu N, Nakagawa I, Hamada S, Ooshima T (2004b). Development of a PCR method for rapid identification of new *Streptococcus mutans* serotype k strains. *Journal of Clinical Microbiology* 42(11): 4925–4930.

Nakano K, Ooshima T. (2009b). Serotype classification of *Streptococcus mutans* and its detection outside the oral cavity. *Future microbiology*, 4(7), 891-902.

Nakatani S, Mitsutake K, Hozumi T, Yoshikawa J, Akiyama M, Yoshida K, Ishizuka N, Nakamura K, Taniguchi Y, et al. (2003). Current characteristics of infective endocarditis in Japan: an analysis of 848 cases in 2000 and 2001. *Circulation Journal*, 67: 901–905.

Nanci A, Bosshardt DD (2006). Structure of periodontal tissues in health and disease. *Periodontology 2000*, (40): 11-28.

Nikkari S, McLaughlin IJ, Bi W, Dodge D E, Relman DA (2001). Does blood of healthy subjects contain bacterial ribosomal DNA? *Journal of Clinical Microbiology*, 39(5): 1956-1959.

Nobbs AH, Lamont RJ, Jenkinson HF (2009). *Streptococcus* adherence and colonization. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 73: 407–450.

Nomura R, Nakano K, Nemoto H, Fujita K, Inagaki S, Takahashi T, Taniguchi K, Takeda M, Yoshioka H, et al. (2006). Isolation and characterization of *Streptococcus mutans* in heart valve and dental plaque specimens from a patient with infective endocarditis. *Journal of Medical Microbiology*, 55:1135–1140.

Norskov-Lauritsen N, Kilian M. (2006). Reclassification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Haemophilus aphrophilus*, *Haemophilus paraphrophilus* and *Haemophilus segnis* as *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* gen. nov., comb. nov., *Aggregatibacter aphrophilus* comb. nov. and *Aggregatibacter segnis* comb. nov., and

emended description of *Aggregatibacter aphrophilus* to include V factor-dependent and V factor-independent isolates. *International Journal of Systemic Bacteriology*, 56: 2135-2146.

Novak MJ, Cohen HJ (1991). Depolarization of polymorphonuclear leukocytes by *Porphyromonas* (*Bacteroides*) *gingivalis* 381 in the absence of respiratory burst activation. *Infection and Immunity*, 59:3134–3142.

Okabe K, Nakagawa K, Yamamoto E (1995). Factors affecting the occurrence of bacteremia associated with tooth extraction. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 24(3):239-242.

Okada M, Hayashi F, Nagasaka N. (2000). Detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in dental plaque samples from children 2 to 12 years of age. *Journal of clinical periodontology*, 27(10), 763-768.

Oliver WW, Wherry WB (1921). Notes on some bacterial parasites of the human mucous membranes. *The Journal of Infectious Diseases*, 341-344.

Oncag O, Cokmez B, Aydemir S, Balcioglu T (2005). Investigation of bacteremia following nasotracheal intubation. *Paediatric Anaesthesia*, 15(3):194-198.

Orland FJ, Blayney JR, Harrison RW, Reyniers JA, Trexler PC, Wagner M, *et al.* (1954). Use of the germfree animal technic in the study of experimental dental caries: I. Basic observations on rats reared free of all microorganisms. *Journal of Dental Research*, 33(2):147-174.

Paine RT (1969). A note on trophic complexity and community stability. *The American Naturalist*, 103: 91-93.

Païssé S, Valle C, Servant F, Courtney M, Burcelin R, Amar J, Lelouvier B (2016). Comprehensive description of blood microbiome from healthy donors assessed by 16S targeted metagenomic sequencing. *Transfusion*, 56(5):1138-1147.

Paju S, Pussinen PJ, Suominen-Taipale L, Hyvönen M, Knuutila M, Könönen E. (2009). Detection of multiple pathogenic species in saliva is associated with periodontal infection in adults. *Journal of clinical microbiology*, 47(1), 235-238.

Palmer EA, Vo A, Hiles SB, Peirano P, Chaudhry S, Trevor A. *et al.* (2012). Mutans streptococci genetic strains in children with severe early childhood caries: follow-up

study at one-year post-dental rehabilitation therapy. *Journal of Oral Microbiology*, 4(1): 19530.

Palmer SR, Miller JH, Abranches J, Zeng L, Lefebure T, Richards VP, Lemos JA, Stanhope MJ, Burne RA (2013). Phenotypic heterogeneity of genomically-diverse isolates of *Streptococcus mutans*. *PLoS One*, 8: e61358.

Paolantonio M, Di Bonaventura G, Placido G, Tumini V, Catamo G, Donato A, Piccolomini R. (2000). Prevalence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and clinical conditions in children and adolescents from rural and urban areas of central Italy. *Journal of clinical periodontology*, 27(8), 549-557.

Parahitiyawa NB, Jin LJ, Leung WK, Yam WC, Samaranyake LP (2009). Microbiology of odontogenic bacteremia: beyond endocarditis. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(1): 46-64.

Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, LAu CN, Levanos VA et al. (2001). Bacterial diversity in human subgingival plaque. *Journal of Bacteriology*, 183: 3770-3783.

Patel JB, Clarridge J, Schuster MS, Waddington M, Osborne J, Nachamkin I. (1999). Bacteremia caused by a novel isolate resembling leptotrichia species in a neutropenic patient. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(6):2064-2067.

Pérez-Losada M, Crandall K, Freishtat RJ. (2016). Comparison of two commercial DNA extraction kits for the analysis of nasopharyngeal bacterial communities. *AIMS Microbiology*, 2(2): 108-119.

Petit MD, Van Steenberg TJ, Timmerman MF, de Graaff J, and Van der Velden U. (1994). Prevalence of periodontitis and suspected periodontal pathogens in families of adult periodontitis patients. *Journal of Clinical Periodontology*, 21:76–85.

Petrunov B, Marinova S, Markova R, Nenkov P, Nikolaeva S, Nikolova M, et al. (2006). Cellular and humoral systemic and mucosal immune responses stimulated in volunteers by an oral polybacterial immunomodulator "Dentavax". *International Immunopharmacology*, 6(7):1181-1193.



Pierce CS, Bartholomew WR, Amsterdam D, Neter E, Zambon JJ (1984). Endocarditis due to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotype c and patient immune response. *Journal of Infectious Diseases*, 149:479-479.

Potgieter M, Bester J, Kell DB, Pretorius E (2015). The dormant blood microbiome in chronic, inflammatory diseases. *FEMS Microbiology Reviews*, 39(4): 567-591.

Potts TV, Zambon JJ, Genco RJ (1985). Reassignment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* to the genus *Haemophilus* as *Haemophilus actinomycetemcomitans*. *International Journal of Systemic Bacteriology*, 35: 337-341.

Poulsen K, Ennibi OK, Haubek D. (2003). Improved PCR for detection of the highly leukotoxic JP2 clone of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in subgingival plaque samples. *Journal of clinical microbiology*, 41(10), 4829-4832.

Psoter WJ, Ge Y, Russell SL, Chen Z, Katz RV, Jean-Charles G, Li Y. (2011). PCR detection of *Streptococcus mutans* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in dental plaque samples from Haitian adolescents. *Clinical Oral Investigations*, 15: 461-469.

Puri P, Liangpunsakul S, Christensen JE, Shah VH, Kamath PS, Gores GJ, *et al.* (2017). The circulating microbiome signature and inferred functional metagenomics in alcoholic hepatitis. *Hepatology*. <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2017-315284>

Qi M, Miyakawa H, Kuramitsu HK. *Porphyromonas gingivalis* induces murine macrophage foam cell formation, *Microbial Pathogenesis*, 2003;35(6):259-67.

Rai K, & Hegde A. (2009). Oral health status of children with congenital heart disease and the awareness, attitude and knowledge of their parents. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 33(4), 315-318.

Rajasuo A, Perkki K, Nyfors S, Jousimies-Somer H, Meurman JH (2004). Bacteremia following surgical dental extraction with an emphasis on anaerobic strains. *Journal of Dental Research*, 83(2):170-174.

Rajendhran J, Shankar M, Dinakaran V, Rathinavel A, Gunasekaran P (2013). Contrasting circulating microbiome in cardiovascular disease patients and healthy individuals. *International Journal of Cardiology*, 168(5): 5118-5120.

- Rajonson N, Meless D, Ba B, Faye M, Diby JS, N'zore S, et al. (2017). High prevalence of dental caries among HIV-infected children in West Africa compared to uninfected siblings. *Journal of public health dentistry*, 77(3), 234-243.
- Rao D, Amitha H, Munshi AK. (2005). Oral hygiene status of disabled children and adolescents attending special schools of South Canara, India. *Hong Kong Dent J*, 2(2), 107-12.
- Rautemaa R, Lauhio A, Cullinan MP, Seymour GJ (2007). Oral infections and systemic disease - An emerging problem in medicine. *Clinical Microbiology and Infection* 13(11):1041-1047.
- Raymaekers M, Smets R, Maes B, Cartuyvels R. (2009). Checklist for optimization and validation of Real-Time PCR assays. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 23, 145-151.
- Rickard AH, Gilbert P, High NJ, Kolenbrander PE, Handley PS. (2003). Bacterial coaggregation: an integral process in the development of multi-species biofilms. *Trends in microbiology*, 11(2), 94-100.
- Riep B, Edesi-Neuss L, Claessen F, Skarabis H, Ehmke B, Flemmig TF, Bernimoulin JP, Gobel UB, Moter A (2009). Are putative periodontal pathogens reliable diagnostic markers? *Journal of Clinical Microbiology*, 47:1705-1711.
- Roberts AE, Allanson JE, Tartaglia M, Gelb BD (2013). Noonan syndrome. *The Lancet*, 381(9863): 333-342.
- Roberts GJ, Holzel HS, Sury MR, Simmons NA, Gardner P, Longhurst P (1997). Dental bacteremia in children. *Pediatric Cardiology*, 18(1):24-27.
- Roberts GJ, Jaffray EC, Spratt DA, Petrie A, Greville C, Wilson M, et al. (2006). Duration, prevalence and intensity of bacteraemia after dental extractions in children. *Heart*, 92(9):1274-1277.
- Roberts GJ, Watts R, Longhurst P, Gardner P (1998). Bacteremia of dental origin and antimicrobial sensitivity following oral surgical procedures in children. *Pediatric Dentistry*, 20(1):28-36.

Roberts GJ. Dentists are innocent! "Everyday" bacteremia is the real culprit: a review and assessment of the evidence that dental surgical procedures are a principal cause of bacterial endocarditis in children. *Pediatric Cardiology*, 1999;20: 317-325.

Rosa EA, Rached RN, Tanaka O, Fronza F, Araujo Assad R (2005). Preliminary investigation of bacteremia incidence after removal of the Haas palatal expander. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 127(1):64-66.

Rousee JM, Bermond D, Piemont Y, Tournoud C, Heller R, Kehrl P, *et al.* (2002). Dialister pneumosintes associated with human brain abscesses. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(10):3871-3873.

Row L, Repp MR, Kingsley K. (2016). Screening of a pediatric and adult clinic population for caries pathogen *Scardovia wiggisiae*. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 40(6), 438-444.

Ruiz TC, Radermacher LM, Mintz K P (2006). Novel surface structures are associated with the adhesion of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* to collagen. *Infection and Immunity*, 74:6163–6170.

Rustemeyer J, Black M, Bremerich A (2006). Value of dental and periodontal focus treatment before organ transplants and valvular prosthesis implants. *Stellenwert der dentalen und parodontalen fokussanierung vor organtransplantationen und herzklappenersatz* 18(1):24-28.

Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Mullis KB, Erlich HA. (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239:487–491.

Sakamoto M, Siqueira JF, Jr, Rocas IN, Benno Y (2008). Molecular analysis of the root canal microbiota associated with endodontic treatment failures. *Oral Microbiology and Immunology*, 23(4):275-281.

Sakamoto M, Umeda M, Ishikawa I, Benno Y. (2000). Comparison of the oral bacterial flora in saliva from a healthy subject and two periodontitis patients by sequence analysis of 16S rDNA libraries. *Microbiology and Immunology*, 44: 643–652.

Samaranayake LP (2006). Normal oral flora, the oral ecosystem and plaque biofilm. In: *Essential Microbiology for Dentistry*. Philadelphia: Elsevier, pp. 255-266.

- Samuel W, Dryden M, Sampson M, Page A, Shepherd H (1997). Spinal abscess of *Haemophilus paraphrophilus*. A case report. *Spine* 22(23):2763-2765.
- Saydam G, Möller I. (1987). Report of WHO Collab.Center/J2 National Pathfinder Survey 1987, /http://www.dent.niigata-u.ac.jp/prevent/ perio/perio.htmlS.
- Schafer CA, Schafer JJ, Yakob M, Lima P, Camargo P, Wong DT. Saliva diagnostics: utilizing oral fluids to determine health status. *Monographs in Oral Science*, 2014; 24: 88-98.
- Schmidt M, Weis C, Heck J, Montag T, Nicol SB, Hourfar MK et al. (2005). Optimized Scansystem™ platelet kit for bacterial detection with enhanced sensitivity: detection within 24 h after spiking. *Vox sanguinis*, 89(3), 135-139.
- Schlein RA, Kudlick EM, Reindorf CA, Gregory J, Royal GC (1991). Toothbrushing and transient bacteremia in patients undergoing orthodontic treatment. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 99(5):466-472.
- Segata N, Haake SK, Mannon P, Lemon KP, Waldron L, Gevers D, et al. Composition of the adult digestive tract bacterial microbiome based on seven mouth surfaces, tonsils, throat and stool samples. *Genome Biology*, 2012; 13: R42.
- Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB (2007). Dental caries. *The Lancet*, 369 (9555), 51-59.
- Senn L, Entenza JM, Prod'hom G. (2006). Adherence of *Abiotrophia defectiva* and *Granulicatella* species to fibronectin: is there a link with endovascular infections? *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 48:215–217.
- Shabani, LF, Begzati A, Dragidella F, Hoxha VH, Cakolli VH, Bruçi B. (2015). The Correlation between DMFT and OHI-S Index among 10-15 Years Old Children in Kosova. *of*, 5, 2002-2005.
- Shah HN, Collins MD (1988). Proposal for reclassification of *Bacteroides asaccharolyticus*, *Bacteroides gingivalis*, and *Bacteroides endodontalis* in a new genus, *Porphyromonas*. *International Journal of Systemic Bacteriology*, 38: 128-131.
- Shain H, Homer KA, Beighton D (1996). Degradation and utilisation of chondroitin sulphate by *Streptococcus intermedius*. *Journal of Medical Microbiology*, 44:372–380.
- Shiloah J, Patters MR, Dean JW, Bland P, Toledo G. (1997). The survival rate of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Bacteroides*

*forsythus* following 4 randomized treatment modalities. *Journal of Periodontology*, 68:720–728.

Shoemark DK, Allen SJ. (2015). The microbiome and disease: reviewing the links between the oral microbiome, aging, and Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 43(3), 725-738.

Simonson LG, McMahon KT, Childers DW, Morton HE (1992). Bacterial synergy of *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* in a multinational population. *Oral Microbiology and Immunology*, 7(2):111-112.

Simón-Soro A, Tomás I, Cabrera-Rubio R, Catalan MD, Nyvad B, Mira A. (2013). Microbial geography of the oral cavity. *Journal of Dental Research*, 92: 616-21.

Siqueira JF Jr, Rocas IN (2009). The microbiota of acute apical abscesses. *Journal of Dental Research*, 88:61-65.

Sirinian G, Shimizu T, Sugar C, Slots J, Chen C. (2002). Periodontopathic bacteria in young healthy subjects of different ethnic backgrounds in Los Angeles. *Journal of periodontology*, 73(3), 283-288.

Sjödin B, & Matsson L. (1992). Marginal bone level in the normal primary dentition. *Journal of clinical periodontology*, 19(9), 672-678.

Slots J, Ting M.(1999). *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in human periodontal disease: occurrence and treatment. *Periodontology 2000*, 20:82-121.

Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL (1998). Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of Clinical Periodontology*, 25(2):134-144.

Sonbol H, Spratt D, Roberts G J, Lucas VS (2009). Prevalence, intensity and identity of bacteraemia following conservative dental procedures in children. *Molecular Oral Microbiology*, 24(3): 177-182.

Soto A, McWhinney PH, Kibbler CC, Cohen J. (1998). Cytokine release and mitogenic activity in the viridans streptococcal shock syndrome. *Cytokine*, 10:370–376.

Spratt DA, Weightman AJ, Wade WG. (1999). Diversity of oral asaccharolytic Eubacterium species in periodontitis—identification of novel phylotypes representing uncultivated taxa. *Oral Microbiology and Immunology*, 14:56–59.

Stecksén-Blicks C, Rydberg A, Nyman L, Asplund S, Svanberg C (2004). Dental caries experience in children with congenital heart disease: A case-control study. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 14(2): 94–100.

Steelman R, Rosen DA, Nelson ER, Kenamond LA. (2003). Gingival colonization with selective HACEK microbes in children with congenital heart disease. *Clinical Oral Investigations*, 7: 38-40.

Stepanovic S, Tosic T, Savic B, Jovanovic M, K'Ouas G, Carlier JP (2005). Brain abscess due to *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Apmis* 113(3):225-228.

Stinson MW, Safulko K, Levine MJ (1991). Adherence of *Porphyromonas* (*Bacteroides*) *gingivalis* to *Streptococcus sanguis* in vitro. *Infection and Immunity*, 59(1):102-108.

Streiff BJ, Seneviratne M, Kingsley K. (2015). Screening and Prevalence of the Novel Cariogenic Pathogen *Scardovia wiggisiae* among Adult Orthodontic and Non-Orthodontic Patient Saliva Samples. *International Journal of Dentistry and Oral Health*, 1(6), 1.

Suda R, Kurihara C, Kurihara M, Sato T, Lai CH, Hasegawa K. (2003). Determination of eight selected periodontal pathogens in the subgingival plaque of maxillary first molars in Japanese school children aged 8–11 years. *Journal of periodontal research*, 38(1), 28-35.

Sullam PM, Drake TA, Sande MA (1985). Pathogenesis of endocarditis. *The American Journal of Medicine*, 78(6): 110-115.

Takai S, Kuriyama T, Yanagisawa M, Nakagawa K, Karasawa T (2005). Incidence and bacteriology of bacteremia associated with various oral and maxillofacial surgical procedures. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics Journal*, 99(3):292-298.

Talebi M, Khordi Mood M, Mahmoudi M, Alidad S (2007). A study on oral health of children with cardiac diseases in Mashhad, Iran in 2004. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, 1: 114-118.

Tanaka S, Murakami Y, Seto K et al. (2003) The detection of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in the

supragingival plaque of children with and without caries. *Pediatric Dentistry*, 25: 143–148.

Tanman B, Cantez T, Dindar A. (2002). Doğumsal kalp hastalıkları. Neyzi O, Ertuğrul T (Editörler) *Pediatric*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, pp.947-73.

Tanner ACR (2015). Anaerobic culture to detect periodontal and caries pathogens. *Journal of Oral Biosciences*, 57(1): 18-26.

Tanner ACR, Kent RL, Holgerson PL, Hughes CV, Loo CY, Kanasi E, *et al.* (2011a). Microbiota of severe early childhood caries before and after therapy. *Journal of Dental Research*, 90(11): 1298-1305.

Tanner ACR, Mathney JMJ, Kent RL, Chalmers NI, Hughes CV, Loo CY, *et al.* (2011b). Cultivable anaerobic microbiota of severe early childhood caries. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(4):1464-1474.

Tanner ACR, Sonis AL, Lif Holgerson P, Starr JR, Nunez Y, Kressirer CA, *et al.* (2012). White-spot lesions and gingivitis microbiotas in orthodontic patients. *Journal of Dental Research*, 91(9): 853-858.

Tarannum F, Faizuddin M (2007). Effect of periodontal therapy on pregnancy outcome in women affected by periodontitis. *Journal of Periodontology*, 78(11):2095-2103.

Tasioula V, Balmer R, Parsons J (2008). Dental health and treatment in a group of children with congenital heart disease. *Pediatric Dentistry*, 30: 323-328.

Taylor LS, Selwyn DRL. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*). [www.antimicrobe.org/new/b72.asp](http://www.antimicrobe.org/new/b72.asp)

Tee W, Midolo P, Janssen PH, Kerr T, Dyal-Smith ML (2001). Bacteremia due to *Leptotrichia trevisanii* sp. nov. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 20(11):765-769.

Teles R (2017). Periodontal medicine-new diagnostic opportunities. *Current Oral Health Reports*, 4(2): 158-166.

Teles RP, Haffajee AD, Socransky SS. (2006). Microbiological goals of periodontal therapy. *Periodontology 2000*, 42(1), 180-218.

Tezal M, Scannapieco FA, Wactawski-Wende J, Meurman JH, Marshall JR, Roja, IG, et al. (2013). Dental caries and head and neck cancers. *JAMA Otolaryngology–Head & Neck Surgery*, 139(10), 1054-1060.

Thornton JB, Alves JC (1981). Bacterial endocarditis. A retrospective study of cases admitted to the University of Alabama Hospitals from 1969 to 1979. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 52: 379-383.

Timby N, Domellöf M, Holgerson PL, West CE, Lönnerdal B, Hernell O, Johansson I (2017). Oral microbiota in infants fed a formula supplemented with bovine milk fat globule membranes-A randomized controlled trial. *PloS one*, 12(1): e0169831.

Tomas I, Alvarez M, Limeres J, Potel C, Medina J, Diz P (2007). Prevalence, duration and aetiology of bacteraemia following dental extractions. *Oral Diseases*, 13(1):56-62.

Topcuoglu N, Bozdoğan E, Aktoren O, Kulekci G (2013). Presence of oral bacterial species in primary endodontic infections of primary teeth. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 38(2): 155-160.

Topcuoglu N, Bozdogan E, Ozsoy SD, Haberal I, Cetin G, Aktoren O, Kulekci G. (2013). Prevalence of salivary *Streptococcus mutans* serotype k in children undergoing congenital heart surgery. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 38(2): 175-178.

Torlakovic L, Klepac-Ceraj V, Øgaard B, Cotton S L, Paster BJ, Olsen I. (2012). Microbial community succession on developing lesions on human enamel. *Journal of Oral Microbiology*, 4(1):1-7.

Tsuda H, Yamashita Y, Toyoshima K, Yamaguchi N, Oho T, Nakano Y, Nagata K, Koga T. (2000). Role of serotype-specific polysaccharide in the resistance of *Streptococcus mutans* to phagocytosis by human polymorphonuclear leukocytes. *Infection and Immunity*, 68: 644–650.

Tuite-McDonnell M, Griffen AL, Moeschberger ML, Dalton RE, Fuerst PA, Leys EJ. (1997). Concordance of *Porphyromonas gingivalis* colonization in families. *Journal of Clinical Microbiology*, 35:455–461.

Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett C, Knight R, Gordon JI. (2007). The human microbiome project: exploring the microbial part of ourselves in a changing world. *Nature*, 449(7164):804-810.



Umeda M, Miwa Z, Takeuchi Y, Ishizuka M, Huang Y, Noguchi, K, et al. (2004). The distribution of periodontopathic bacteria among Japanese children and their parents. *Journal of periodontal research*, 39(6), 398-404.

Unsal G, Topcuoglu N, Ulukapi I, Kulekci G, and Aktoren O. (2017). Scardovia Wiggisiae and the Other Microorganisms in Severe Early Childhood Caries. *Journal of Dentistry and Oral Care Medicine*, 3(3), ISSN: 2454-3276.

Üstek D. (2011). Yeni nesil DNA dizileme (New generation DNA sequencing). *Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 1(1): 11-18.

Vacharaksa A, Suvansopee P, Opaswanich N, Sukarawan W. (2015). PCR detection of Scardovia wiggisiae in combination with Streptococcus mutans for early childhood caries-risk prediction. *European Journal of Oral Sciences*, 123(5), 312-318.

Valasek MA, Repa JJ. (2005). The power of real-time PCR. *Advances in Physiology Education*, 29, 151-159.

Van Winkelhoff AJ, Loos BG, Van Der Reijden WA, Van Der Velden U. (2002). Porphyromonas gingivalis, Bacteroides forsythus and other putative periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction. *Journal of clinical periodontology*, 29(11), 1023-1028.

Varal IG, Köksal N, Özkan H, Bostan Ö, Siginak IS, Bağcı O, Uysal F (2015). Congenital heart diseases followed in our neonatal intensive care unit: frequency, risk factors and prognosis. *Guencel Pediatri*, 13(3).

Vidal AM, Sarria JC, Kimbrough RC, Keung YK (2000). Anaerobic bacteremia in a neutropenic patient with oral mucositis. *American Journal of Medical Sciences*, 319(3):189-190.

Vieira AR, Deeley KB, Callahan NF, Noel JB, Anjomshoaa I, Carricato WM, et al. (2011). Detection of streptococcus mutans genomic DNA in human DNA samples extracted from saliva and blood. *ISRN Dentistry*, ISSN:20904371

Wagner KW, Schon R, Schumacher M, Schmelzeisen R, Schulze D (2006). Case report: brain and liver abscesses caused by oral infection with Streptococcus intermedius. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics*, 102(4): e21-23.

Wahlmann U, Al-Nawas B, Jutte M, Wagner W (1999). Clinical and microbiological efficacy of single dose cefuroxime prophylaxis for dental surgical procedures. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 12(3):253-256.

Wang J, Qi J, Zhao H, He S, Zhang Y, Wei S, Zhao F (2013). Metagenomic sequencing reveals microbiota and its functional potential associated with periodontal disease. *Scientific Reports*, 3: 1843.

Wang PL, Shirasu S, Daito M, Ohura K (2001). Streptococcus mutans lipoteichoic acid-induced apoptosis in cultured dental pulp cells from human deciduous teeth. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 281(4): 957-961.

Wang X, Buhimschi CS, Temoin S, Bhandari V, Han YW, Buhimschi IA (2013). Comparative microbial analysis of paired amniotic fluid and cord blood from pregnancies complicated by preterm birth and early-onset neonatal sepsis. *PLoS One* 8: e56131.

Watanabe K, Frommel TO. (1993). Detection of Porphyromonas gingivalis in oral plaque samples by use of the polymerase chain reaction. *Journal of dental research*, 72(6), 1040-1044.

Welbury RR, Thomason JM, Fitzgerald JL, Steen IN, Marshall NJ, Foster HE. (2003). Increased prevalence of dental caries and poor oral hygiene in juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatology*, 42(12), 1445-1451.

Wilhelm N, Sire S, Le Coustumier A, Loubinoux J, Beljerd, M, & Bouvet A. (2005). First case of multiple discitis and sacroiliitis due to Abiotrophia defectiva. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 24(1), 76-78.

Wilson W, Taubert KA, Gewitz M, Lockhart PB, Baddour LM, Levison M, Bolger A, Cabell CH, Takahashi M, Baltimore RS, Newburger JW, Strom BL, Tani LY, Gerber M, Bonow RO, Pallasch T, Shulman ST, Rowley AH, Burns JC, Ferrieri P, Gardner T, Goff D, Durack DT. American Heart Association. Prevention of infective endocarditis: guidelines from the American Heart Association: a guideline from the American Heart Association rheumatic fever, endocarditis and Kawasaki Disease Committee, Council on Cardiovascular Disease in the Young, and the Council on Clinical Cardiology, Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia, and the Quality of Care and

Outcomes Research Interdisciplinary Working Group. (2008). *Journal of American Dental Association*, 139: 3-24.

World Health Organization. *Oral Health Surveys: Basic Methods* (1997). Geneva: World Health Organization.

Yakob M, Fuentes L, Wang MB, Abemayor E, Wong DT (2014). Salivary biomarkers for detection of oral squamous cell carcinoma current state and recent advances. *Current Oral Health Reports*, 2: (1): 133-141.

Yang NY, Zhang Q, Li JL, Yang SH, Shi Q. (2014). Progression of periodontal inflammation in adolescents is associated with increased number of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis*, and *Fusobacterium nucleatum*. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 24:226-233.

Zafar S (2008). A comparative study of the oral health status of cardiac and non-cardiac paediatric patients at Tygerberg hospital. *Doctoral dissertation*, University of the Western Cape.

Zambon JJ, Haraszthy VI, Hariharan G, Lally ET, Demuth DR (1996). The microbiology of early-onset periodontitis: association of highly toxic *Actinobacillus actinomycetemcomitans* strains with localized juvenile periodontitis. *Journal of Periodontology*, 67(3): 282-290.

Zang T, Li J, Ge L, Wang W, Lvya L, Xiaoyan Y. et al. (2011). Study of dental caries conditions and the correlative factors in CHD children. *Journal of Modern Stomatology*, 25(4): 241–244.

Zaura E, Keijsers BJ, Huse SM, Crielaard W. (2009). Defining the healthy “core microbiome” of oral microbial communities, *BMC Microbiology*, 9:259.

Zhong D, Brower-Sinning R, Firek B, Morowitz MJ. (2014). Acute appendicitis in children is associated with an abundance of bacteria from the phylum *Fusobacteria*. *Journal of pediatric surgery*, 49(3), 441-446.

Zhou X, Liu X, Li J, Aprecio RM, Zhang W, Li Y (2015). Real-time PCR quantification of six periodontal pathogens in saliva samples from healthy young adults. *Clinical Oral Investigations*, 19(4): 937-946.

## HAM VERİLER

**Tablo 1: Plazma örneklerinde tespit edilen  $\beta$ -globin kopya sayısı**

Örnek Adı (Kontrol Grubu)	Ct	Konsatrasyon (kopya sayısı)/5ul DNA	Örnek Adı (Kalp Hastası Grup)	Ct	Konsatrasyon (kopya sayısı)/5ul DNA
Sample 1	32,56	141	Sample 21	35,99	26,6
Sample 2	33,67	82,1	Sample 22	25,58	4150
Sample 3	27,21	1880	Sample 23	34,82	46,9
Sample 4	34,39	57,9	Sample 24	35,59	32,3
Sample 5	33,25	101	Sample 25	34,21	63,1
Sample 6	33,67	82,1	Sample 26	32,02	183
Sample 7	34,19	63,6	Sample 27	33,35	95,7
Sample 8	32,65	134	Sample 28	33,87	74,6
Sample 9	35,08	41,4	Sample 29	34,32	60
Sample 10	28,59	966	Sample 30	32,2	167
Sample 11	32,56	141	Sample 31	36,76	18,3
Sample 12	35,72	30,3	Sample 32	36,14	24,7
Sample 13	27,9	1350	Sample 33	35,79	29,3
Sample 14	33,19	104	Sample 34	34,33	59,6
Sample 15	33,92	72,6	Sample 35	35,9	27,8
Sample 16	26,47	2700	Sample 36	34,75	48,6
Sample 17	33,85	75,2	Sample 37	35,24	38,2
Sample 18	27,62	1550	Sample 38	27,48	1650
Sample 19	33,9	73,5	Sample 39	31,01	298
Sample 20	33,79	77,4	Sample 40	35,66	31,3

**Tablo 2:Plazma örneklerinden izole edilen bakteriyel DNA kopya sayıları**

<b>Örnek Adı</b>	<b>Ct</b>	<b>Konsatrasyon (kopya sayısı)/5ul DNA</b>
Sample 1	29,81	2,61
Sample 2	28,88	4,01
Sample 3	31,68	1,41
Sample 4		0
Sample 5	24,55	87,5
Sample 6	34	1,05
Sample 7	32,14	1,28
Sample 8	33,89	1,05
Sample 9	31,58	1,45
Sample 10	31,61	1,44
Sample 11	29,14	3,53
Sample 12	27,98	6,55
Sample 13	30,88	1,76
Sample 14	33,14	1,1
Sample 15	32,36	1,23
Sample 16	30,53	1,98
Sample 17	32,8	1,15
Sample 18	32,95	1,13
Sample 19	33,73	1,06
Sample 20	27,07	11,7
Sample 21	31,01	1,7
Sample 22	25,68	32,8
Sample 23	31,94	1,33
Sample 24	29,74	2,68
Sample 25	31,79	1,38
Sample 26	31,13	1,64
Sample 27	31,62	1,43
Sample 28	28,13	6
Sample 29	31,26	1,58
Sample 30	33,96	1,05
Sample 31	37,88	2
Sample 32	30,62	1,92
Sample 33	30,52	1,99
Sample 34	30,51	2
Sample 35	28,93	3,9
Sample 36	32,32	1,24
Sample 37	31,17	1,62
Sample 38	31,59	1,45
Sample 39	29,98	2,43
Sample 40	30,17	2,26

**Tablo 3: Tükürük örneklerinden izole edilen hedef bakteri ve total bakteri sayıları**

Örnekler	SM	SMK	AA	JP2	FN	SW	PG	Total bac.
Sample 1	30500	28700	0	0	1340000	142	0	22600000
Sample 2	3840	0	0	0	2750000	21,8	0	18900000
Sample 3	8870	3800	86200	0	1910000	3,55	11200	13900000
Sample 4	3870	0	0	0	527000	710	0	5040000
Sample 5	2950	1060	0	0	256000	135	0	3060000
Sample 6	4530	0	0	0	240000	512	0	2830000
Sample 7	424	0	0	0	1630000	6,98	0	17200000
Sample 8	8670	0	0	0	683000	118	0	13700000
Sample 9	490	0	29400	0	751000	144	0	2920000
Sample 10	301	0	0	0	513000	432	0	2770000
Sample 11	1530	1070	71300	0	617000	557	23300	6600000
Sample 12	946	1390	57600	0	537000	131	0	5300000
Sample 13	185	113	0	0	793000	54,8	0	7520000
Sample 14	144	0	11200	0	114000	145	0	918000
Sample 15	1990	0	0	0	444000	22,7	32500	8840000
Sample 16	8200	0	150000	0	665000	17,8	0	5770000
Sample 17	7760	0	0	0	375000	244	8810	4590000
Sample 18	459	0	0	0	522000	9,02	0	1780000
Sample 19	3230	314	37800	99,7	345000	0	4050	1980000
Sample 20	60,2	0	0	0	23000	17,7	0	181000
Sample 21	4540	0	0	99,7	1420000	9,66	0	8280000
Sample 22	6480	8500	72200	0	296000	51,7	11000	5100000
Sample 23	131	0	20900	0	940000	1,76	3170	10300000
Sample 24	265	0	0	0	541000	355	0	3290000
Sample 25	201	0	0	0	52500	266	1,12	935000
Sample 26	3210	0	14800	0	295000	1,76	0	8540000
Sample 27	2720	5040	0	437	711000	765	0	8700000
Sample 28	6110	0	0	0	879000	1150	0	8480000
Sample 29	593	0	0	0	467000	69,1	0	3000000
Sample 30	5420	0	0	0	1550000	342	0	16600000
Sample 31	1960	0	0	0	675000	80,5	24300	5430000
Sample 32	903	0	0	0	185000	205	0	3250000
Sample 33	3760	982	0	99,7	411000	357	0	5270000
Sample 34	0	0	0	0	188000	0	0	921000
Sample 35	1280	0	0	0	666000	20,6	0	5290000
Sample 36	1430	0	0	0	18900	180	0	131000
Sample 37	17,6	0	0	0	274000	22,8	13100	1850000
Sample 38	64,1	0	0	0	60400	33,7	0	555000
Sample 39	3000	233	0	0	81900	79,6	87,4	796000
Sample 40	1030	0	6870	0	124000	193	0	1290000

## FORMLAR

## ETİK KURUL KARARI



T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ  
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı :81

10.02.2016

Konu :Prof. Dr. Oya Aktören

Sayın Prof. Dr. Oya AKTÖREN  
Pedodonti Anabilim Dalı

İlgi: Pedodonti Anabilim Dalının 11/12/2015 gün ve 392710 sayılı yazısı.

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz 2015/74 dosya nolu "Kalp hastası çocuklarda mobil ve oral mikrobiyom ilişkisinin değerlendirilmesi" başlıklı çalışma kurulumuzun 10/02/2016 tarih ve 27 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof.Dr. Faruk Haznedaroğlu  
İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Klinik  
Araştırmalar Etik Kurul Başkanı

Eki: I.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

## KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kalp hastası çocuklarda mobil ve oral mikrobiyom ilişkisinin değerlendirilmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	2015/74

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	I.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	I.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	TELEFON	4142020-30326
	FAKS	5312230
	E-POSTA	disheketikkurul@istanbul.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Oya Aktören						
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Pedodonti Anabilim Dalı						
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İ. Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı						
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-						
	DESTEKLEYİCİ	Üniversite						
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	-						
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-						
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>					
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>					
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>					
FAZ 4		<input type="checkbox"/>						
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>						
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>						
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>						
İlaç dışı klinik araştırma		<input checked="" type="checkbox"/>						
Diğer ise belirtiniz.								
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ	<input type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ	<input checked="" type="checkbox"/>	ULUSAL	<input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI	<input type="checkbox"/>

Prof. Dr. Faruk Haznedaroğlu

İmza:



Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.



## KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kalp hastası çocuklarda mobil ve oral mikrobiyom ilişkisinin değerlendirilmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	2015/74

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	11.12.2015	2015/74	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama		
	SIGORTA	<input type="checkbox"/>		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>		
	BIYOLOJİK MATERİYEL TRANSFER FORMU	<input checked="" type="checkbox"/>		
	İLAN	<input type="checkbox"/>		
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>		
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>		
GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>			
DİĞER:	X	Anabilim Dalı Başkanlığından Üst yazı ve Akademik Kurul Kararı, çürük aktivite testi istek formu, izin yazıları, genetik çalışmalar için bilgilendirilmiş gönüllü onam formu, literatür örneği, taahhütname, cv, cd,		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:81	Tarih: 10.02.2016		
Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmacı/çalışmanın gerekece, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmacı/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.				

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	PROF. DR. FARUK HAZNEDAROĞLU

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişkisi	Katılım *	İmza
Prof. Dr. Faruk Haznedaroğlu	Endodonti	İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi(BAŞKAN)	E X K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H X	E X H <input checked="" type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Gamze Aren	Pedodonti	İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi(BAŞKAN Y.)	E <input type="checkbox"/> K X	E <input type="checkbox"/> H X	E X H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Levent Ertuğrul	Fizyoloji	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi	E X K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H X	E <input type="checkbox"/> H X	
Prof. Dr. Mustafa Demirci	Diş Hastalıkları ve Tedavisi	İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E X K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H X	E X H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. İknur Özcan	Ağız, Diş ve Çene Redyolojisi	İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K X	E <input type="checkbox"/> H X	E <input type="checkbox"/> H X	
Prof. Dr. Funda Yalçın	Periodontoloji	İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K X	E <input type="checkbox"/> H X	E X H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Nil Cura	Ortodonti	İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K X	E <input type="checkbox"/> H X	E X H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Fatma Gülbahar Işık	Protetik Diş Tedavisi	İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K X	E <input type="checkbox"/> H X	E X H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Yusuf Emes	Ağız, Diş-Çene Hastalıkları Cerrahisi	İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E X K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H X	E X H <input type="checkbox"/>	
Op. Dr. Ahmet Kocakuşak	Genel Cerrah	S.B Haseki Eğitim	E X K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H X	E X H <input type="checkbox"/>	

Prof. Dr. Faruk Haznedaroğlu

İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

## HASTA ONAM FORMU

T.C.  
İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi  
Pedodonti Anabilim Dalı

### KATILIMCILAR İÇİN GÖNÜLLÜ BİLGİLENDİRME VE ONAM FORMU

**Araştırma yürütücüsü:** Prof.Dr. Oya Aktören

**Araştırma adı:** Kalp hastası çocuklarda mobil ve oral mikrobiyom ilişkisinin değerlendirilmesi.

Sizin ve çocuğunuzun İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi tarafından yürütülen bu çalışmaya katılmasını arzu ediyoruz. Aşağıda bu çalışma ile ilgili bazı bilgiler bulacaksınız. Bu bilgiler sizin ve çocuğunuzun çalışmaya katılmasının kolaylaştırılması ve öneminin anlaşılabilmesi için hazırlanmıştır.

**Araştırmanın Amacı ve Önemi:** Bu çalışmada, konjenital ve romatizmal kalp hastalığı bulunan çocuklarda ve sağlıklı çocuklarda oral mikrobiyom ve mobil mikrobiyom ilişkisinin metagenomik analiz ile değerlendirilmesi amaçlanmıştır. 5-15 yaş arası kalp hastalığı bulunan ve sağlıklı kontrol grubu çocuklardan elde edilen kan ve tükürük örnekleri analiz edilerek ağızdaki ve kan dolaşımındaki bakteri çeşitliliği ve ilişkisi incelenecektir.

Bu araştırmanın sonucunda konjenital ve romatizmal kalp hastalığı bulunan çocuklarda bakteriyemiye sebep olan bakterilerin tespiti ve ağız içerisindeki bakterilerle ilişkilerinin belirlenmesi beklenmektedir. Bu bulgular sonucunda iyi oral hijyenin ve düzenli diş muayenesinin enfektif endokarditin önlenmesindeki öneminin vurgulanması hedeflenmektedir. Ayrıca kültürden bağımsız metagenomik analizler ile kültüre edilemeyen bakterilerin de tanımlanabilmesi sayesinde, çocuklarda oral mikrobiyomun daha kapsamlı incelenmesi amaçlanmaktadır.

**Gerçekleştirilecek İşlemler:**

Bu çalışmaya katılmayı kabul etmeniz durumunda çocuğunuzun ayrıntılı bir ağız içi muayenesi yapılarak, dişlerde çürük varlığı ve miktarı, mevcut restorasyonlar, dişeti sağlığı gibi özellikler açısından değerlendirilecektir. Çocuğunuzdan tükürük örnekleri alınacak ve alınmış olan kan örnekleriyle beraber incelenecektir. Bu çalışmaya sizin ve çocuğunuzun katılımı tamamen sizin kendi iradeniz ile vereceğiniz karara bağlıdır.

**Katılımın süresi:**

Bu çalışmaya katılmaya karar verirsiniz muayene ve anamnez işlemi yaklaşık olarak 10 dakika, kan ve tükürük alınması yaklaşık 15 dakika sürecektir.

**Potansiyel Risk ve Sorunlar:**

Bu çalışmada kullanılan klinik muayene yöntemleri rutin diş hekimliği muayene yöntemleri ile aynıdır. Çalışma esnasında steril standart muayene takımları kullanılarak çocuğunuzun ağız içi muayeneleri yapılacaktır. Kan ve tükürük örnekleri sterilizasyon koşulları göz önünde bulundurularak yapılacaktır. Bu nedenle çalışmanın herhangi bir riskinin söz konusu olmayacağı düşünülmektedir. Herhangi bir fiziksel yaralanma oluşmaması için gereken her türlü özen ve hassasiyet gösterilecektir.

**Hastaların olası yararları:**

Ayrıntılı ağız içi muayene sonrası ağız hijyeninin iyileştirilmesine ve koruyucu tedavilere yönelik bilgilendirmeler yapılacak, tedavi gereksinimi varsa bununla ilgili bilgi verilecek ve gerekli yönlendirmeler yapılacaktır.

**Gizlilik:**

Size ve çocuğunuza ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlanırsa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve

resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

**Kurumumuzun Sorumluluk Sınırları:**

Herhangi bir fiziksel yaralanma oluşmaması için gereken her türlü özen ve hassasiyet gösterilecektir. Muayene işlemleri esnasında oluşacak herhangi bir fiziksel travmadan dolayı kurumumuz sorumluluk kabul etmemektedir. Fakat oluşacak zararlar konusunda yardımcı olmak için elimizden gelen gayret gösterilecektir.

**Çalışmadan çıkmak:**

İstediğiniz takdirde başlangıçta çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. İstediğiniz takdirde araştırmacıya haber vererek çalışma kapsamı dışında kalabileceği gibi araştırmacı tarafından gerek görüldüğünde araştırma dışı da bırakılabilirsiniz. Çalışma kapsamı dışında kalmanız İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi'nin tedavi hizmetlerinden yararlanmanızı etkilemeyecektir.

**Mali Sorumluluk:**

Katılımcı, araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmeyecektir. Ayrıca katılımcıya da bir ödeme yapılmayacaktır.

**Sorularınız:**

Sizin ve çocuğunuzun çalışma ile ilgili sorularınız en kısa sürede yanıtlanacaktır. Sorularınızı doğrudan Prof.Dr. Oya Aktören' e sorabileceğiniz gibi gerekirse 0-212-414 20 20 no'lu telefonu da kullanabilirsiniz.

Bu proje İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Etik Kurul komitesi tarafından incelenmiş ve onaylanmıştır. Bu proje ile ilgili sorularınız gerekirse önceden telefon ile randevu olarak komiteye de yöneltebilirsiniz.

**HASTA VELİSİNİN BEYANI**

Sayın Prof.Dr. Oya Aktören tarafından İ.Ü. Diş Hekimliği Fak. Pedodonti A.D.'da tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya çocuğum "katılımcı" (denek) olarak davet edildi.

Eğer bu araştırmaya çocuğum ile katılırsak hekim ile aramızda kalması gereken bize ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimizin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebiliriz. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimizi önceden bildirmemim uygun olacağına bilincindeyim). Ayrıca tıbbi durumumuza herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabiliriz.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyoruz. Bize de bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle çocuğumda meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğiz).

Araştırma sırasında, çalışma ile ilgili çocuğumun bir sağlık sorunu oluştuğunda; mesai saatleri içinde, Prof.Dr. Oya Aktören'i, 0212 414 20 20 'dan arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabiliriz. Araştırmaya katılmamız konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersek, bu durumun tıbbi bakımımıza ve hekim ile olan ilişkimize herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyoruz.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde çocuğumun "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kâğıdının bir kopyası bana verilecektir.

### GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın çocuğum ile birlikte katılmayı kabul ediyorum.

#### Katılımcının,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

#### Yasal temsilcisinin/ebeveyninin,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

#### Açıklamaları yapan araştırmacının,

Adı-Soyadı: Sermin Dicle AKSAKAL

Görevi: Doktora Öğrencisi Araştırma Görevlisi

Adresi: İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı

Tel.-Faks: 0212 4142020/30283 0212 5340807

Tarih ve İmza:

#### Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin,

Adı-soyadı:

Görevi:

İmzası:

İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı

ÇAPA TR-34093 İstanbul, Türkiye

Tel: 0212 4142020/30317

Faks: 0212 5340807

e-mail : dicleulug@hotmail.com

## HASTA DEĞERLENDİRME FORMU

Tarih:.....

Adı Soyadı:..... Cinsiyeti: Erkek  Kadın

Doğum tarihi:..... Telefon numarası:.....

**ÇAT Paketi Çürük Kayıt Formu**


		55	54	53	52	51	61	62	63	64	65			Kahes	Süt					
		18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28			
<b>o</b>																		0	sağlam	A
<b>m</b>																		1/1*	Çürük/beyaz lezyon	B/B*
<b>b</b>																		2	dolgu & çürük	C
<b>d</b>																		3	dolgu, çürüksüz	D
<b>l</b>																		4	çürüğe bağlı çekim	E
<b>o</b>																		5	diğer sebeplerle çekim	-
<b>m</b>																		6	fissür örtücü	-
<b>b</b>																		7	Kuron, köprü ayağı	G
<b>d</b>																		8	sürmemiş	-
<b>l</b>																		9	diğer	-
		48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38			
					85	84	83	82	81	71	72	73	74	75						

DMFT: Çürük \_\_\_\_\_ Çekilmiş \_\_\_\_\_ Dolgu \_\_\_\_\_ = \_\_\_\_\_

DMFS: Çürük \_\_\_\_\_ Çekilmiş \_\_\_\_\_ Dolgu \_\_\_\_\_ = \_\_\_\_\_

**Ağız hijyeni (Plak miktarı)**

G & V OHI-S Plak İndeksi							Derece			Ağız Hijyeni Kriterleri			
16	11	26	36	31	46		Toplam	Sayı	İndeks	0	Plak veya boya yok		
buk	lab	buk	ling	lab	ling					1	Diş yüzeyinin üçte birinden fazla olmayan plak, veya boyanmış alan varlığı		
										2	Diş yüzeyinin üçte birinden fazla, üçte ikisinden az plak varlığı		
										3	Diş yüzeyinin üçte ikisinden fazla plak varlığı		



**PATENT HAKKI İZİNİ**



## İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

### KALP HASTASI ÇOCUKLARDA MOBİL VE ORAL MİKROBİYOM İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

#### ORJİNALLİK RAPORU

<b>%5</b> BENZERLİK ENDEKSİ	<b>%3</b> İNTERNET KAYNAKLARI	<b>%4</b> YAYINLAR	<b>%2</b> ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
--------------------------------	-------------------------------------	-----------------------	-------------------------------

#### BİRİNCİL KAYNAKLAR

<b>1</b>	TUTAR, Esen, KÖKSALAN, Elif and AKYOL, İsmail. "Gıdalarda Bulunan Mikrobiyal Patojenlerin Karakterizasyonunda ", Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, 2015. Yayın	<b>%1</b>
<b>2</b>	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	<b>&lt;%1</b>
<b>3</b>	KÜLEKÇİ, Güven. "AĞIZ SAĞLIĞININ YENİ TANIMI: AĞIZ MİKROBİYOMU", Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Derneği, 2013. Yayın	<b>&lt;%1</b>
<b>4</b>	<a href="http://www.istanbulsaglik.gov.tr">www.istanbulsaglik.gov.tr</a> İnternet Kaynağı	<b>&lt;%1</b>
<b>5</b>	<a href="http://www.journalagent.com">www.journalagent.com</a> İnternet Kaynağı	<b>&lt;%1</b>
<b>6</b>	BALEVİ, Ali, EREN, Abdulkadir, ÜSTÜNER, Pelin and ÖZDEMİR, Mustafa. "Plak Morfeada	<b>&lt;%1</b>